



## **Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Pseudomonas putida* als Spender- oder Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

*Pseudomonas putida* ist ein Gram-negatives, aerob und saprotroph lebendes Bodenbakterium aus der Familie der *Pseudomonaceae* und gehört zur Gruppe der fluoreszierenden *Pseudomonas* sp.. *P. putida* ist ein Teil der pflanzlichen Rhizosphäre, wo es sich von Exsudaten der Pflanzenwurzeln ernährt und im Gegenzug durch die Bildung von Toxinen und Siderophoren die Besiedlung der Wurzeln mit phytopathogenen Keimen verhindert [1]. Daher kann *P. putida* zur Stärkung der Pflanzenabwehr eingesetzt werden [2].

Seine Fähigkeit, aromatische Kohlenwasserstoffe wie Toluol oder Phenol als Kohlenstoffquelle zu nutzen, lässt eine biologische Reinigung von kontaminierten Böden und Behandlung von Abwasser möglich erscheinen [3; 4]. Ebenso könnte *P. putida* beim Recycling von Polystyrol genutzt werden, das zum biologisch abbaubaren Biopolymer Polyhydroxyalkanoat abgebaut wird [5].

Der Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe hat kürzlich *P. putida* von der Risikogruppe 1 in die Risikogruppe 2 hochgestuft, da Infektionen in letzter Zeit gehäuft aufgetreten seien. Nach § 5 GenTSV galt für *P. putida* bisher die Einstufung in die Risikogruppe 1.

*P. putida* ist als vergleichsweise seltener Erreger von Infektionen vorwiegend bei immunsupprimierten Menschen wie Krebskranken und Frühgeborenen in Erscheinung getreten, wobei der größte Risikofaktor dabei die Verwendung von invasiven medizinischen Gerätschaften wie Harnwegs- oder Venenkathetern ist [9]. Infektionen umfassen hauptsächlich Bakteriämien, Harnwegsinfektionen und Lungenentzündungen und seltener Infektionen der Haut, des Bauchfells, des Zentralen Nervensystems, der Ohren und der Gelenke (zusammengefasst in [6]). Bei immunkompetenten Patienten verursachte *P. putida* Meningitis bei einer 79jährigen [7], postoperative Wundinfektionen [6] und Bakteriämie und Entzündung des Unterhautgewebes oberhalb beider Knöchel bei einer 78jährigen, die durch ein Überflutungsgebiet gewartet war [8].

Die Heilungschancen bei durch *P. putida* ausgelösten Bakteriämien gelten mit ~ 93 % als gut [9].

In Aquakulturen wurden vereinzelt durch *P. putida* hervorgerufene Weichteilinfektionen von Fischen beobachtet [10]. Diese scheinen durch Stressfaktoren wie zu großer Besatzdichte begünstigt zu werden (zitiert in [11]). Die Virulenz ist stamm- und wirtsspezifisch unterschiedlich. So starben 45 % der Regenbogenforellen an Infektionen der Flossen und des Rückens nach der Belastung des Beckenwassers mit einer Endkonzentration von  $5 \times 10^6$  colony forming units (cfu) ml<sup>-1</sup> für 1 h [10], während die LD<sub>50</sub> einer intraperitonealen Verabreichung eines anderen Umweltisolates an Flundern und Steinbutte mit  $1,5 \times 10^9$  cfu beträchtlich höher war [12].

## Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Pseudomonas putida* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten in die **Risikogruppe 2** eingestuft.

## Begründung

*P. putida* ist ein Erreger von Infektionen beim Menschen, die im Allgemeinen gut behandelbar sind. Die Mehrzahl der Infektionen tritt bei Immunsupprimierten auf, es wurden jedoch auch Erkrankungen bei Menschen ohne Einschränkungen des Immunstatus' beschrieben.

Daneben ruft *P. putida* Weichteilinfektionen bei Fischen hervor. Es liegen keine Hinweise vor, dass *P. putida* ein phytopathogener Organismus ist.

## Hinweis

Der Stamm *P. putida* mt-2 KT2440 ist mit seinen Vektoren pKT262, pKT263 und pKT264 als Biologische Sicherheitsmaßnahme anerkannt (Anhang IIA GenTSV). Im Genom dieses Stammes wurden keine genetischen Informationen für Virulenzfaktoren wie Typ-III-Sekretionssysteme, Exotoxine oder Zellwand-abbauende Enzyme gefunden [13]. Dementsprechend verbleibt dieser Stamm in der **Risikogruppe 1** und kann weiterhin als Empfängerstamm für Biologische Sicherheitsmaßnahmen genutzt werden.

## Literatur

- [1] Weller DM (1988). Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Ann Rev Phytopathol.* 26: 379-407.
- [2] Liu L, Kloepper JW, Tuzun S (1995). Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85: 695-8.
- [3] El-Bassi L, Iwasaki H, Oku H, Shinzato N, Matsui T (2010). Biotransformation of benzothiazole derivatives by the *Pseudomonas putida* strain HKT554. *Chemosphere.* 81(1): 109-13.
- [4] Chung P, Tseng HY, Juang RS (2003). Mass transfer effect and intermediate detection for phenol degradation in immobilized *Pseudomonas putida* systems. *Process Biochem.* 38: 1497-507.
- [5] Ward PG, Goff M, Donner M, Kaminsky W, O'Connor KE (2006). A two step chemo-biotechnological conversion of polystyrene to a biodegradable thermoplastic. *Environ Sci Technol.* 40(7): 2433-7.
- [6] Carpenter RJ, Hartzell J, Forsberg JA, Babel BS, Ganesan A (2008). *Pseudomonas putida* war wound infection in a US marine: A case report and review of the literature. *J Infect.* 56: 234-40.
- [7] Toru S, Maruyama T, Hori T, Gocho N, Kobayashi T (2008). *Pseudomonas putida* meningitis in a healthy adult. *J Neurol.* 255: 1605-6.
- [8] Chen CH, Hsiu RH, Liu CE, Young TG (2005). *Pseudomonas putida* bacteremia due to soft tissue infection contracted in a flooded area of central Taiwan: a case report. *J Microbiol Immunol Infect.* 38: 293-5.
- [9] Yoshino Y, Kitazawa T, Kamimura M, Tatsuno K, Ota Y, Yotsuyanagi H (2010). *Pseudomonas putida* bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature. *J Infect Chemother.* 17(2): 278-82.
- [10] Altinok I, Kayis S, Capkin E (2006). *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. *Aquaculture.* 261: 850-5.
- [11] Smolowitz R (1998). *Pseudomonas putida* infections of the oyster toadfish (*Opsanus tau*). *Biol Bull.* 195: 229-31.

- [12] Zhang W, Chen L, Liu D (2012). Characterization of a marine-isolated mercury-resistant *Pseudomonas putida* strain SP1 and its potential application in marine mercury reduction. *Appl Microbiol Biotechnol.* 93: 1305-14.
- [13] Nelson KE, Weinel C, Paulsen IT, et al. (2002). Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environ Microbiol.* 4(12): 799-808.