



Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung der *Aeromonas salmonicida*-Mutante A 440 als Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten

I. Einführung:

Aeromonas salmonicida ist ein Gram-negatives, zur Familie *Vibrionaceae* gehörendes Bakterium, das spezifisch für Fische, insbesondere für Salmoniden, pathogen ist. Der Organismus verursacht u. a. eine als Furunkulose bezeichnete septikämische Erkrankung, die durch die Bildung von Geschwülsten in der Haut der Fische mit unterschiedlichen Infektionsverläufen gekennzeichnet ist, die auch zu einem Befall der inneren Organe, wie Herz und Niere, führen können. Die Krankheit verläuft oftmals tödlich, vor allem, wenn es sich um junge oder geschwächte Tiere handelt. Auf Grund seiner fischpathogenen Eigenschaften wird *Aeromonas salmonicida* im Merkblatt B006 der BG-Chemie der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Als Virulenzfaktoren von *Aeromonas salmonicida* werden extrazelluläre, zytotoxische Enzyme (z.B. Hämolsin, Protease) sowie das sog. A-Protein angesehen. Es handelt sich hierbei um ein ca. 50 kd großes Protein, das an der Oberfläche der Bakterien eine zusätzliche Zellwandschicht („A-layer“) ausbildet. Dieses führt zu einer Autoagglutinierbarkeit der Zellen, die als Nachweis des A-Proteins verwendet wird. Das A-Protein vermittelt eine Resistenz gegenüber dem Immunsystem der Fische und scheint darüber hinaus weitere Funktionen zu haben, z. B. bei der Aufnahme von Eisen.

Die *Aeromonas salmonicida*-Mutante A 440 (ATTC-Nr. 14174) besitzt eine Deletion im Gen *vapA*, das für das A-Protein kodiert. Die Deletion umfaßt 1410 bp des 1506 bp großen Gens. Hierdurch ist die Mutante nicht mehr in der Lage, A-Protein zu bilden, was zu einem Verlust der Virulenz führt. Die LD₅₀ dieser Mutante für Salmoniden liegt bei intraperitonealer Applikation bei über 10⁸ Bakterien, wohingegen die LD₅₀ von virulenten Stämme von *Aeromonas salmonicida* ca. 10²-10³ Bakterien beträgt.

II. Empfehlung der ZKBS zur Einstufung der *Aeromonas salmonicida*-Mutante A 440 als Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten

Die *Aeromonas salmonicida*-Mutante A 440 ist gemäß § 5 Abs. 2 i. V. m. Anhang I Teil B GenTSV der **Risikogruppe 1** zuzuordnen, wenn sie bei gentechnischen Arbeiten als Empfängerorganismus verwendet wird. Es ist zu beachten, daß die Mutante durch Klonierung von Fremd-DNA, die auch in einem Gemisch von DNA-Sequenzen (z.B. Genbanken) vorliegen kann, zum Wildtyp komplementiert werden kann. Eine Höherstufung der GVO in die **Risikogruppe 2** ist dann im Einzelfall notwendig. Gentechnische Arbeiten, bei denen bakterielle Nukleinsäuresequenzen in die Mutante eingeführt werden, die für Virulenzfaktoren anderer pathogener Bakterien kodieren, sind zur Einstufung der ZKBS vorzulegen. Abfälle, die gentechnisch veränderte Zellen der Mutante enthalten, sind zur Entsorgung zu inaktivieren.