



Az.: 6790-10-52

August 1997

Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung von *Agrobacterium tumefaciens*

In zwei Anfragen wurde die ZKBS darum gebeten, eine Stellungnahme zur Humanpathogenität von Agrobakterien abzugeben. Die Anfragen wurden durch ein Schreiben ausgelöst, in dem behauptet wird, daß von kalktoleranten Rhododendron-Kultivaren Risiken durch Agrobakterien ausgehen, die neben Wucherungen an den Pflanzen auch Infektionen beim Menschen verursachen können. Unter Berücksichtigung der §§ 5 und 7 sowie Anhang I Gentechniksicherheitsverordnung wurden Agrobakterien in der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten (Bundesgesundheitsblatt 38, 5 (1995) - Sonderbeilage) in Risikogruppe 1 eingestuft. Die Einstufung wird mit dieser Stellungnahme begründet.

I. Einführung:

Agrobacterium bildet eine Gattung gramnegativer, sporenloser, aerober, beweglicher Stäbchen innerhalb der Familie *Rhizobiaceae*. Ihr natürlicher Standort ist die Rhizosphäre von Pflanzen. Sie kommen daher weltweit im Erdboden mit Keimzahlen von bis zu 500 Bakterien pro Gramm Boden vor. Alle Agrobakterien vermögen im Temperaturbereich von 20 - 28 °C (Optimum: 25 - 28 °C) zu wachsen.

Innerhalb der Gattung *Agrobacterium* werden z.Zt. 8 Spezies genannt (Merkblatt B 006 der BG Chemie). Bis vor kurzem galten *A. tumefaciens* und *A. radiobacter* als zwei verschiedene selbständige Spezies. Inzwischen konnte aber gezeigt werden, daß Vertreter dieser beiden Arten einander so ähnlich sind, daß sie in einer Art zusammengefaßt werden müßten. Die Speziesbezeichnungen *A. tumefaciens* und *A. radiobacter* sind somit synonym, von denen die Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology als gültige Bezeichnung und gleichzeitig als Typspezies der Gattung *A. tumefaciens* bestätigt hat (Int. J. System. Bacteriol. 45, 196 (1995)).

A. tumefaciens ist pflanzenpathogen mit einem für Pflanzen onkogenen Potential. Mit Hilfe des großen Tumor-induzierenden Ti-Plasmides (ca. 200 kb) können *A. tumefaciens* Bakterien Pflanzenzellen zu autonom wuchernden Tumorzellen transformieren. „*A. radiobacter*“ stellt eine Ti-Plasmid-freie Variante von *A. tumefaciens* dar und ist nicht pflanzenpathogen. Nur durch das Vorhandensein bzw. Fehlen des konjugativen Ti-Plasmides sind diese *A. tumefaciens*-Varianten unterscheidbar.

Der Wirtsbereich von *A. tumefaciens* ist sehr weit und umfaßt 640 Pflanzenarten aus 93 Familien dikotyler und gymnospermer Pflanzen. Unter den monokotylen Pflanzen sind nur einige Vertreter der Ordnungen *Liliales* und *Arales* für *A. tumefaciens* empfindlich (Bergey's Manual 1984).

A. tumefaciens hat eine besondere Bedeutung für das *genetic engineering* von Pflanzen erlangt. Das Bakterium erwies sich als sehr geeignetes natürliches Vehikel für gentechnische Veränderungen, insbesondere der Dikotyledonen.



Bei Infektionen des Menschen wurden bisher nur Plasmid-freie „*A. radiobacter*“-Varianten nachgewiesen. Mit nur einer Ausnahme fehlte bei allen untersuchten *A. tumefaciens*-Isolaten aus klinischem Untersuchungsmaterial das Ti-Plasmid bzw. die Fähigkeit zur Induktion des Tumorstwachstums an Pflanzen, geprüft in entsprechenden Testsystemen.

II. Bewertung der Ti-Plasmid-freien *Agrobacterium tumefaciens* Variante „*A. radiobacter*“ als Krankheitserreger beim Menschen:

Agrobakterien werden bisher als für Pflanzen pathogene Bakterien aufgefasst. Da jedoch in den letzten 30 Jahren in der medizinischen Fachliteratur (Lautrop 1967, Riley und Weaver 1977, Kiredjian 1979, Popoff et al. 1984, Hulse et al. 1993, Edmond et al. 1993, Alnor et al. 1994, Southern et al. 1996) eine Reihe von Berichten über den Nachweis von Agrobakterien in Untersuchungsmaterialien vom Menschen erschienen ist, sollen diese nachfolgend bewertet werden.

Insgesamt sind die Nachweise der Variante „*A. radiobacter*“ in signifikanten klinischen Materialien wie Blut, Liquor, Peritonealflüssigkeit bzw. an Sonden und Kathetern - verglichen mit anderen opportunistischen Erregern - sehr selten.

Es ist festzustellen, daß die Variante „*A. radiobacter*“ als potentiell pathogener Keim nur unter zwei Voraussetzungen zu einer Infektion des Menschen fähig ist:

- bei Vorliegen einer ausgeprägten Immuninsuffizienz, z.B. auf der Grundlage einer malignen oder konsumierenden Grundkrankheit oder aber von therapeutischen Maßnahmen und/oder
- bei langfristiger Inkorporation alloplastischer Implantate, wie z.B. von zentralen Venenkathetern, Peritonealsonden für eine chronische Hämodialyse oder von biomedizinischen Geräten.

In entsprechenden Modelluntersuchungen ließ sich zeigen, daß Bakterien der Variante „*A. radiobacter*“ in ähnlicher Weise wie Staphylokokken an Silikonoberflächen von Sonden und Implantaten zu adhäreren vermögen. Daher gelingt bei einem Teil der mit diesem Erreger besiedelten Patienten eine Sanierung kaum durch eine alleinige antibiotische Therapie, sondern meist nur durch eine vorzeitige Entfernung der Katheter oder Sonden und nötigenfalls deren Neueinführung.

A. tumefaciens- bzw. „*A. radiobacter*“-Bakterien bilden keine Exotoxine.

Tierexperimentelle Untersuchungen sprechen für eine sehr geringe Pathogenität der Agrobakterien. Ein intravenös an Mäuse verabreichtes Lipopolysaccharid der Variante „*A. radiobacter*“ führte bei diesen Tieren nicht zu einem letalen Effekt, wie dies bei der Gabe von LPS vieler anderer gramnegativer Bakterien der Fall ist.

In einer Reihe von Literaturberichten über den Nachweis der *A. tumefaciens* Variante „*A. radiobacter*“ im Untersuchungsmaterial Erkrankter wurde angegeben, daß außer der Variante „*A. radiobacter*“ häufig weitere Erreger angezüchtet worden waren, die in gleicher Weise bzw. vorrangig als Ursache für eine vorliegende Symptomatik in Betracht kommen. Darüber hinaus ist auch die Möglichkeit einer Kontamination der Untersuchungsmaterialien bei oder nach der Entnahme vom Patienten in Betracht zu ziehen.



III. Schlußfolgerungen

Die *A. tumefaciens* Variante „*A. radiobacter*“ ist ein sehr selten im klinischen Untersuchungsmaterial vom Menschen nachgewiesenes opportunistisches Bakterium mit nur sehr geringer Pathogenität.

Bei einem Entweichen des Organismus in die Umwelt entsteht keine Gefährdung, da *A. tumefaciens*-Bakterien ohnehin im Erdboden ubiquitär verbreitet sind.

Seit mehr als 15 Jahren werden *A. tumefaciens*-Bakterien bei gentechnischen Arbeiten in breitem Umfang eingesetzt, ohne daß jemals hierdurch gesundheitliche Störungen oder Hinweise auf eine Gefährdung bekannt geworden sind.

Auf der Grundlage der heute vorliegenden wissenschaftlichen Erkenntnisse und klinischen Erfahrungen ist *A. tumefaciens* als Organismus der Risikogruppe 1 zu bewerten.

Literatur

- Alnor, D., N. Frimodt-Moeller, F. Espersen u. W. Frederiksen. 1994. Infections with the unusual human pathogens *Agrobacterium* species and *Ochromobacterium anthropi*. Clin. Inf. Dis. **18**: 914-920.
- Edmond, M.B., S.A. Riddler, C.M. Baxter, B.M. Wicklund u. A.W. Pasculle. 1993. *Agrobacterium radiobacter*: a recently recognized opportunistic pathogen. Clin. Inf. Dis. **16**. 388-391.
- Hulse, M., S. Johnson u. P. Ferrieri. 1993. *Agrobacterium* infections in humans: experience at one hospital and review. **16**. 112-117.
- Kersters, K. u. J. De Ley. 1984. Genus III. *Agrobacterium*. Conn 1942. 359^{AL}. In: Krieg, N.R. u. J.G. Holt eds. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. Baltimore: William & Wilkins. 244-254.
- Kiredjian, M. 1979. Le genre *Agrobacterium* peut-il être pathogène pour l'homme? Médecine et Maladies Infectieuses (Paris). **9**. 233-235.
- Lautrop, H. 1967. *Agrobacterium* spp. isolated from clinical specimens. A. Path. Micr. Scand. Suppl. **187**. 63-64.
- Popoff, M.Y., K. Kersters, M. Kiredjian, I. Miras u. C. Coynault. 1984. Position taxonomique de souches de *Agrobacterium* d'origine hospitalière. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) **135 A**. 427-442.
- Riley, P.S. u. R.E. Weaver. 1977. Comparison of thirty-seven strains of Vd-3 bacteria with *Agrobacterium radiobacter*: morphological and physiological observations. J. Clin. Microb. **5**. 172-177.
- Southern, P.M. Jr. 1996. Bacteremia due to *Agrobacterium tumefaciens (radiobacter)*: report of infection in a pregnant women and their stillborn fetus. Diagnost. Microbiol. Infect. Dis. **24**. 43-45.