

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Parachlamydia acanthamoebae
als Spender- oder Empfängerorganismus
für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Parachlamydia acanthamoebae ist ein obligat intrazellulär lebendes Bakterium der Familie der *Parachlamydiaceae*. Es wurde in Amöben wie z. B. *Acanthamoebae* spp. entdeckt, die sowohl bei einem Ausbruch von fieberigen Erkrankungen als auch von der Nasenschleimhaut gesunder Probanden isoliert wurden [1; 2]. *P. acanthamoeba* durchläuft den typischen Lebenszyklus der *Chlamydiales*. Die infektiöse Form, der sog. Elementarkörper, wird von eukaryotischen Zellen durch Endocytose aufgenommen und verbleibt in cytoplasmatischen *inclusion bodies*. Die Elementarkörper entwickeln sich in den *inclusion bodies* zu metabolisch aktiven Retikularkörpern, die mehrere Teilungszyklen durchlaufen. Die Chlamydien verwandeln sich anschließend wieder in die metabolisch inaktiven, infektiösen Elementarkörper und werden durch Exocytose oder die Lyse der Wirtszellen frei. Die 16S rRNA von *P. acanthamoeba* war bis zu 87 % mit der von *Chlamydia* spp., aber nur zu höchstens 75 % mit der aller anderen untersuchten Bakterien identisch. Durch die Analyse der 16S rRNA wurden die *Parachlamydiaceae* als eigene Familie innerhalb der Ordnung der *Chlamydiales* etabliert [3].

Acanthamoeba spp. selbst können Keratitis und bei Immunsupprimierten auch granulomatöse Enzephalitis [4] auslösen, jedoch auch als Vektor für pathogene Mikroorganismen wie *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii* oder *Francisella tularensis* fungieren, die sich in den Amöben etablieren und vermehren [5; 6; 7]. Während bei Temperaturen von 25 bis 30 °C Amöben nicht durch intrazelluläre *P. acanthamoebae* beeinträchtigt werden, führt eine Umgebungstemperatur von 32 bis 37 °C zur Lyse der Amöben durch die Bakterien [8]. *P. acanthamoebae*-tragende Amöben wurden von der Nasenschleimhaut gesunder Probanden isoliert. Hier ist die Körpertemperatur geringer als in den unteren Atemwegen. Gelangen die *P. acanthamoebae*-tragende Amöben jedoch in die unteren Atemwege, werden die Amöben lysiert, so dass große Mengen *P. acanthamoebae* frei werden und die Atemwege infizieren können.

Es wurde nachgewiesen, dass sich *P. acanthamoebae* außer in *Acanthamoeba* spp. auch in anderen Amöbenarten sowie in menschlichen Makrophagen, Lungenfibroblasten und Pneumozyten vermehren kann [9; 10; 11].

In den letzten Jahren wurden vermehrt Hinweise darauf gefunden, dass *P. acanthamoebae* Erkrankungen auslösen kann. Die Seren einiger Patienten mit Pneumonie unbekannter Ätiologie zeigten eine immunologische Reaktion mit *P. acanthamoebae*, nicht aber mit anderen Chlamydien [12]. In einer weiteren Studie waren acht von 371 Patienten (2 %) mit ambulant erworbener Pneumonie seropositiv, während 511 gesunde Probanden seronegativ waren [13]. Nukleinsäurefragmente des Genoms von *P. acanthamoebae* wurden im Sputum und in bronchoalveolären Lavagen von Patienten mit Infektionen der unteren Atemwege [14; 15; 16; 17], in Monozyten eines Patienten mit Bronchitis [14] und in Rachenabstrichen von Kindern mit Bronchiolitis unbekannter Ätiologie [18] nachgewiesen.

Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass die intratracheale bzw. intranasale Infektion von BALB/c-Mäusen (immunkompetent) mit 2×10^8 colony forming units von *P. acanthamoebae* Pneumonien mit einer Letalität von bis zu 88 % auslöst [19; 20].

Darüber hinaus ist es möglich, dass *P. acanthamoebae* Aborte verursacht. In Plazenten von Rindern, die einen Abort mit unbekannter Ursache hatten, wurde im Rahmen einer Schweizer Studie in 13,4 % der untersuchten Fälle DNA von *P. acanthamoebae* nachgewiesen [21]. Auch

im Fruchtwasser einer Schweizerin, die eine Fehlgeburt unbekannter Ursache hatte, wurde *P. acanthamoeba* nachgewiesen. Ein zoonotischer Hintergrund wird angenommen, da sie als Schlachterin arbeitete. Zum Zeitpunkt der Fruchtwasserentnahme (einige Wochen vor dem Abort) hatte sie Husten und weitere grippale Symptome [22].

In *in vitro*-Tests erwies sich *P. acanthamoebae* als suszeptibel gegen Makrolidantibiotika, Tetrazykline und Rifampicin, während es resistent gegen Chinolone war [23].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *P. acanthamoebae* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Der eindeutige Nachweis der Pathogenität von *P. acanthamoebae* ist bisher nicht gelungen, da die Anzucht des Bakteriums in axenischer Kultur schwierig ist. Es existieren jedoch starke Hinweise darauf, dass *P. acanthamoeba* Auslöser von Pneumonien und Aborten bei Tieren und dem Menschen ist.

Literatur

- [1] Lewis DM, Dutkiewicz J, Sorenson WG, Mamolen M, Hall JE (1990). Microbiological and serological studies of an outbreak of ‚humidifier fever‘ in a print shop. *Biodeteriorations Res.* 3: 467-77.
- [2] Amann R, Springer N, Schönhuber W, Ludwig W, Schmid EN, Müller KD, Michel R (1997). Obligate intracellular bacterial parasites of acanthamoebae related to *Chlamydia* spp.. *Appl Env Microbiol.* 63: 115-21.
- [3] Everett KDE, Bush RM, Andersen AA (1999). Emended description of the order Chlamydiales, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol.* 49: 415-40.
- [4] Marciano-Cabral F, Cabral G (2003). *Acanthamoeba* spp. as agents of disease in humans. *Clin Microbiol Rev.* 16: 273-307.
- [5] La Scola B, Raoult D (2001). Survival of *Coxiella burnetii* within free-living amoebae *Acanthamoeba castellanii*. *Clin Microbiol Infect.* 7: 75-9.
- [6] Rowbotham TJ (1980). Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae. *J Clin Pathol.* 33: 1179-83.
- [7] Abd H, Johansson T, Golovliov I, Sandström G, Forsman M (2003). Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Appl Environ Microbiol.* 69: 600-6.
- [8] Greub G, La Scola B, Raoult D (2003). *Parachlamydia acanthamoebae* is endosymbiotic or lytic for *Acanthamoeba polyphaga* depending on the incubation temperature. *Ann NY Acad Sci.* 990: 628-34.
- [9] Michel R, Müller KD, Hoffmann R (2001). Enlarged *Chlamydia*-like organisms as spontaneous infection of *Acanthamoeba castellanii*. *Parasitol Res.* 87: 248-51.
- [10] Greub G, Mege J, Raoult D (2003). *Parachlamydia acanthamoebae* enters and multiplies within human macrophages and induces their apoptosis. *Infect Immun.* 71: 5979-85.
- [11] Casson N, Medico N, Bille J, Greub G (2006). *Parachlamydia acanthamoebae* enters and multiplies within pneumocytes and lung fibroblasts. *Microb Infect.* 8: 1294-300.
- [12] Birtles RJ, Rowbotham TJ, Storey C, Marrie TJ, Raoult D (1997). Chlamydia-like obligate parasite of free-living amoebae. *Lancet.* 349: 925-6.

- [13] Marrie TJ, Raoult D, La Scola B, Birtles RJ, de Carolis E (2001). *Legionella*-like and other amoebal pathogens as agents of community-acquired pneumonia. *Emerg Inf Dis.* 7: 1026-9.
- [14] Ossewaarde JM, Meijer A (1999). Molecular evidence for the existence of additional members of the order *Chlamydiales*. *Microbiology.* 145: 411-7.
- [15] Corsaro D, Venditti D, Le Faou A, Guglielmetti P, Valassina M (2001). A new *Chlamydia*-like 16S rDNA sequence from a clinical sample. *Microbiology.* 147: 515-6.
- [16] Corsaro D, Venditti D, Valassina M (2002). New parachlamydial 16S rDNA phylotypes detected in human clinical samples. *Res Microbiol.* 153: 563-7.
- [17] Greub G, Berger P, Papaian L, Raoult D (2003). *Parachlamydiaceae* as rare agents of pneumonia. *Emerg Infect Dis.* 9: 755-6.
- [18] Casson N, Posfay-Barbe KM, Gervaix A, Greub G (2008). New diagnostic real-time PCR for specific detection of *Parachlamydia acanthamoebae* DNA in clinical samples. *J Clin Microbiol* 46: 1491-3.
- [19] Casson N, Entenza JM, Borel N, Pospischil A, Greub G (2008). A mouse model of lung infection by *Parachlamydia acanthamoebae*. *Microb Pathog.* 45: 92-7.
- [20] Casson N, Sommer K, Klos A, Stehle JC, Pusztaszeri M, Greub G (2008). Intranasal murine model of infections by *Parachlamydia acanthamoebae*. *Proc Annu Meeting Swiss Soc Infect Dis.* 17.
- [21] Blumer S, Greub G, Waldvogel A, Hässig M, Thoma R, Tschuor A, Pospischil A, Borel N (2011). *Waddlia*, *Parachlamydia* and *Chlamydiaceae* in bovine abortion. *Vet Microbiol.* 152: 385-93.
- [22] Baud D, Goy G, Gerber S, Vial Y, Hohlfeld P, Greub G (2008). Evidence of maternal-fetal transmission of *Parachlamydia acanthamoebae*. *Emerg Infect Dis.* 15(1): 120-1.
- [23] Maurin M, Bryskier A, Raoult D (2002). Antibiotic susceptibilities of *Parachlamydia acanthamoebae* in amoebae. *Antimicrob Agents Chemother.* 46: 3065-7.