



Stellungnahme der ZKBS

Einstufung von *Vibrio cholerae* O139 MO10 Bengal-2 in eine Risikogruppe als Empfänger- und Spenderorganismus für gentechnische Arbeiten

Vibrio cholerae O139 ist der erste nicht O1-Serotyp, der zu einer Choleraepidemie führte. Von Oktober 1992 an breitete sich dieser Stamm von Indien nach Bangladesh, Nepal, Burma, Thailand, Malaysia, Saudi-Arabien, China und Pakistan aus.

Die mikrobiologische Charakterisierung zeigt, dass *V. cholerae* O139 ein Gram-negatives, fakultativ anaerobes, polar begeißeltes Stäbchen ist¹. Weitere Untersuchungen legen nahe, dass dieser Serotyp nahe verwandt ist mit der *V. cholerae*-Variante O1 El Tor. Neben der Fähigkeit zur Agglutination von roten Blutzellen aus Hühnern zeigen beide Stämme die gleiche genomische Lokalisation des CTX Φ , der für die drei Enterotoxine Cholera toxin, *zonula occludens toxin* (Zot) und *accessory cholera enterotoxin* (Ace) kodiert. Differenziert werden kann *V. cholerae* O139 von O1 El Tor über die Sensibilität von O1 El Tor gegenüber Mukherjee-Phagen und der Resistenz von O139 gegen Streptomycin, Sulfmetoxazol, Trimethoprim und Furazolidon.

Da der *V. cholerae* O139 eine ziemlich hohe Infektionsrate bei Erwachsenen in Indien erreichte, wird davon ausgegangen, dass frühere Infektionen mit O1-Serotypen keine Immunität gegen den Serotyp O139 vermitteln. Zudem konnte dieser Serotyp O139 mit einer deutlich höheren Frequenz (12% gegenüber < 1%) aus Wasserproben isoliert werden als O1-Serotypen². Dies deutet auf einen Überlebensvorteil dieses Serotyp gegenüber O1-Stämmen in der Umwelt hin. Deshalb wurde ein Impfstammprototyp gegen *V. cholerae* O139 entwickelt³. Als Ausgangsstamm wurde das Patientenisolat MO10 verwendet, welches eine große Menge an Cholera toxin exprimiert, da drei CTX Φ im Genom vorliegen. Dieser *V. cholerae* MO10 wurde mit dem Plasmid pAR62 transformiert, welches ein subgenomisches homologes Fragment von *V. cholerae* MO10 mit einer definierten Deletion der Integrationsstelle der CTX Φ und RS1 Φ (Satellitenphage von CTX Φ) trägt. Über homologe Rekombination wurden so alle Kopien der beiden Prophagen entfernt. Da auch die *attRS*-Integrationsstelle entfernt wurde, wird erwartet, dass RS1 Φ und CTX Φ nicht mehr in das Genom integrieren können. Der so konstruierte Stamm wird als *Vibrio cholerae* O139 MO10 Bengal-2 bezeichnet.

Trotz der Eliminierung der Gene *ctxAB*, die für den Hauptpathogenitätsfaktor Cholera toxin kodieren, und der anderen Toxingene für Zot und Ace, wird der *V. cholerae*-Stamm O139 MO10 Bengal-2 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten in die **Risikogruppe 2** eingestuft. *V. cholerae* O139 MO10 Bengal-2 wird bisher nicht als Impfstamm verwendet und es liegen keine Daten über das Gefährdungspotential für den Menschen vor. Aus Untersuchungen mit dem *V. cholerae* O139-Derivat Bengal-3, der sich nur durch das Konstrukt $\Delta recA::htpGp \rightarrow ctxB$ von Bengal-2 unterscheidet, ist bekannt, dass Bengal-3 im Gegensatz zum *V. cholerae* O139-Derivat Bengal-15 eine leichte Diarrhöe auslösen kann. Eine mögliche Ursache ist nach Annahme von Coster et al., dass Bengal-15 nicht mehr mobil ist, wohingegen Bengal-3 noch polar begeißelt ist⁴. Nicht-bewegliche Stämme sind wahrscheinlich nicht mehr in der Lage, die das Epithel schützende Schleimschicht zu überwinden. Dies verhindert dann die Ausschüttung von Zytokinen durch Enterozyten und somit die Diarrhöe. Zudem scheint der Ausgangsstamm *V. cholerae* O139 MO10 eine höhere Überlebensfähigkeit außerhalb des Wirtes zu haben als O1-Serotypen. Dies ist auch für den attenuierten Stamm Bengal-2 anzunehmen, weil keine biologischen Schranken einge-



baut wurden, die eine Ausbreitung außerhalb gentechnischer Anlagen unterbinden. Im Vergleich zum *V. cholerae* O139-Derivat Bengal-3 kann der Stamm Bengal-2 die eliminierten Pathogenitätsfaktoren durch horizontalen Gentransfer und homologe Rekombination wieder erwerben³.

1. Albert, M. J. *Vibrio cholerae* O139 Bengal. *J. Clin. Microbiol* **32**, 2345-2349 (1994).
2. Islam, M. S. *et al.* Isolation of *Vibrio cholerae* O139 synonym Bengal from the aquatic environment in Bangladesh: implications for disease transmission. *Appl. Environ. Microbiol* **60**, 1684-1686 (1994).
3. Waldor, M. K. & Mekalanos, J. J. Emergence of a new cholera pandemic: molecular analysis of virulence determinants in *Vibrio cholerae* O139 and development of a live vaccine prototype. *J. Infect. Dis.* **170**, 278-283 (1994).
4. Coster, T. S. *et al.* Safety, immunogenicity, and efficacy of live attenuated *Vibrio cholerae* O139 vaccine prototype. *Lancet* **345**, 949-952 (1995).