



Stellungnahme der ZKBS

zur Risikobewertung von *Vibrio cholerae* O395-N1 als Spender- oder Empfängerorganismus bei gentechnischen Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Vibrio cholerae ist ein weltweit verbreitetes Gram-negatives Bakterium und wird als Erreger der Cholera gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV der **Risikogruppe 2** zugeordnet. Die Übertragung des Erregers erfolgt hauptsächlich fäkal-oral über verschmutztes Trinkwasser, in seltenen Fällen auch direkt über infizierte Personen. Die Pathogenität von *V. cholerae* beruht hauptsächlich auf der Expression des Cholera-toxins, eines Enterotoxins, das aus zwei Untereinheiten A und B zusammengesetzt ist. Die Untereinheit B vermittelt dabei die Bindung des Giftes an seinen Rezeptor Gangliosid GM₁ [i], während Untereinheit A die G-Protein-Untereinheit G_s ribosyliert, so dass diese konstitutiv aktiv vorliegt. Dies führt zu einer Aktivierung der membranständigen Adenylatzyklase, zur vermehrten Bildung von cAMP in der Darmschleimhaut und zu starkem Flüssigkeitsverlust wegen der Sekretion von Chloridionen und Wasser über den Darm [ii]. Die für die Toxin-Untereinheiten kodierenden Gene *ctxA* und *ctxB* liegen in einem Operon vor, das ein- bis viermal im Genom von *V. cholerae* enthalten sein kann. Stämme mit Mutationen in den Toxin-genen wurden als Lebendvakzine genutzt, wie es z.B. für die Vakzine CVD103-HgR (Orochol) der Fall war.

In der vorliegenden Stellungnahme wird der Stamm *Vibrio cholerae* O395-N1 bewertet, bei dem es sich um einen Abkömmling des pathogenen Wildtypisolates *V. cholerae* O395 handelt. *V. cholerae* O395-N1 unterscheidet sich von *V. cholerae* O395 dadurch, dass in beiden Kopien des *ctxA*-Gens der Teil deletiert wurde, der für das aktive Zentrum der A-Untereinheit kodiert [iii]. Der Stamm *V. cholerae* O395-NT, bei dem zusätzlich beide Kopien des *ctxB*-Gens mutiert vorliegen, ist bereits von der ZKBS bewertet und in die **Risikogruppe 2** eingestuft worden (Az. 6790-05-01-64, ZKBS-Sitzung vom 7. Oktober 2003).

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Vibrio cholerae* O395-N1 als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Die Einstufung in die Risikogruppe 2 erfolgt, da die in den Stamm *V. cholerae* O395-N1 eingeführten Mutationen zwar wahrscheinlich zu einer Abschwächung der Virulenz des Erregers führen, aber keine vollständige Apathogenität vorausgesetzt werden kann. Ein genetisch vergleichbarer *V. cholerae* O395-Abkömmling, bei dem ebenfalls die beiden Gene für die A-Untereinheit des Cholera-toxins deletiert wurden, ist bereits in einer Studie untersucht worden. In dieser Studie mit immunkompetenten jungen Erwachsenen führte die Gabe von 10⁴ Bakterien bei der Hälfte der Testpersonen zu leichtem Durchfall. Daher gilt dieser mit *V. cholerae* O395-N1 genetisch vergleichbare Stamm als nicht ausreichend attenuiert, um als Lebendimpfstoff verabreicht zu werden [iv]. Dies liegt wahrscheinlich in der Wirkung zusätzlicher Virulenzfaktoren wie z.B. des



toxin-coregulated pilus (TCP), Kolonisierungsfaktoren, Zytolysinen, Shiga-ähnlichem Toxin und Hämolysin begründet.

Dementsprechend sollten beim Umgang mit *V. cholerae* O395-N1 als Spender- und Empfängerorganismus bei gentechnischen Arbeiten Sicherheitsbedingungen der **Stufe 2** angewandt werden.

Literatur

- [1] Le Vine H, Cuatrecasas P. An overview of toxin-receptor interactions. *Pharmacol Ther.* 1981; 12(1):167-207
- [2] Guttman JA, Finlay BB. Subcellular alterations that lead to diarrhea during bacterial pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2008; 16(11):535-42
- [3] Mekalanos JJ, Swartz DJ, Pearson GD, Harford N, Groyne F, de Wilde M. Cholera toxin genes: nucleotide sequence, deletion analysis and vaccine development. *Nature.* 1983; 306 (5943):551-7
- [4] Levine MM, Kaper JB, Herrington D, Losonsky G, Morris JG, Clements ML, Black RE, Tall B, Hall R. Volunteer Studies of deletion mutants of *Vibrio cholerae* O1 prepared by recombinant techniques. *Infect Immun.* 1988; 56(1):161-7