

## **Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Chryseobacterium nematophagum* als Spender- oder Empfängerorganismus gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

### **Allgemeines**

*Chryseobacterium nematophagum* ist ein Nematoden tötendes Bakterium in der Familie der *Weeksellaceae* innerhalb der *Bacteroidetes*. Es ist ein Gram-negatives, aerob lebendes und sich gleitend fortbewegendes Stäbchen [1]. Aufgrund des Pigments Flexirubin erscheinen die Kolonien von *C. nematophagum* golden, was sich auch im Namen der gesamten Gattung *Chryseobacterium* („goldene Bakterien“) widerspiegelt [2]. Die Bakterien sind Katalase- und Oxidase-positiv und gekennzeichnet durch Gelatinase-Aktivität. Sie vermehren sich optimal bei 30 °C auf Blutagar, wogegen das Wachstum auf LB-Medium langsamer ist. Bei 37 °C wächst *C. nematophagum* gar nicht [1].

Bis dato (Stand August 2021) wurden zwei Stämme von *C. nematophagum* (JU**129** und JU**275**) isoliert, welche jeweils mit dem bakterienfressenden Nematoden *Caenorhabditis briggsae* assoziiert waren. Die Nematoden waren aus faulenden Äpfeln aus Frankreich bzw. faulenden Feigen aus Indien isoliert worden [1].

Neben *C. briggsae* infizieren und töten die Bakterien auch andere freilebende Stadien von bakterienfressenden und parasitären Nematoden. Darunter sind einige Würmer von tiermedizinischer Bedeutung, wie zum Beispiel *Haemonchus contortus* (Roter Magenwurm) und *Ostertagia ostertagi* (Brauner Magenwurm), die Schafe, Ziegen und Rinder befallen. Die Ko-Inkubation der *C. nematophagum* Bakterien mit der pflanzenfressenden Nematodenart *Globodera pallida* und mit Larven der Gelbfiebermücke (*Aedes aegypti*) beeinträchtigte das Wachstum der Nematoden bzw. der Larve nicht. Vermutlich ist dies durch die nicht-bakterielle Ernährung begründet, wodurch *C. nematophagum* von den Tieren nicht aufgenommen wird und damit weder besiedeln noch infizieren kann [1].

In bakterienfressenden Nematoden zeigt *C. nematophagum* einen einzigartigen Invasionsprozess. Zunächst werden die Würmer von den *C. nematophagum*-Bakterien angezogen, vermutlich durch Lockstoffe, die von den Bakterien sezerniert werden, und fressen diese daraufhin. Innerhalb von drei Stunden nach der Aufnahme, haben die Bakterien den vorderen Rachenbereich degradiert und treten in die Bauchhöhle ein, wodurch der Wirt letztendlich getötet wird. Nach 24 Stunden ist das Innere der Würmer verdaut. Über einen Zeitraum von zwei bis drei Tagen erfolgt die Verdauung der übrig gebliebenen Kutikula, bestehend aus schwer verdaubarem und stark quervernetztem Kollagen [1].

Durch Sequenzierung des Genoms von *C. nematophagum* konnten Gene für eine Chitinase und eine Kollagenase nachgewiesen werden. Diese sind vermutlich für die ungewöhnlich schnelle Degradierung des chitin- und kollagenausgekleideten Rachenraums bzw. der Kutikula verantwortlich. Zudem wurden im Genom des Bakteriums eine Reihe weiterer Gene für potentielle Virulenzfaktoren, inklusive einiger Toxingene, identifiziert. Darunter sind z. B.

mehrere Proteasegene und 38 *por*-Gene [1]. Letztere kodieren für Proteine des Typ-IX-Sekretionssystems PorS, welches in Vertretern des Phylums *Bacteroidetes* bereits mit Virulenz und gleitender Fortbewegung in Verbindung gebracht wurde [3]. Zu den Toxingenen zählen zwei Hämolysegene und mehrere Gene von Thiol-aktivierten Zytolysinen, darunter Homologe zu Genen für Streptolysin O und Perfringolysin O [1], welche typischerweise von verschiedenen Streptococcusarten bzw. von *Clostridium perfringens* exprimiert werden [4]. Zusätzlich wurden im Genom von *C. nematophagum* zwei Gene entdeckt, die für die katalytisch aktive S1-Untereinheit des Pertussis-Toxins kodieren [1]. Untersuchungen zu den tatsächlichen Funktionen aller potentiellen Virulenzfaktoren von *C. nematophagum* stehen allerdings noch aus.

Aufgrund seiner Pathogenität gegenüber Nematoden soll das Bakterium als biologisches Bekämpfungsmittel gegen parasitäre Nematoden eingesetzt werden [1]. Berichte über Infektionen von *C. nematophagum* bei Wirbeltieren liegen bisher nicht vor.

Die Gattung der Chryseobakterien beinhaltet derzeit über 140 Arten, von denen der Großteil nicht pathogene Umweltisolate darstellt. Einige Chryseobakterien-Arten können jedoch nachweislich den Menschen bzw. andere Tiere wie z. B. Fische infizieren [5, 6]. In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 466 „Einstufung von Prokaryoten (Bacteria und Archaea)“ werden derzeit 107 *Chryseobacterium*-Arten gelistet. Davon ist der Großteil der Risikogruppe 1 zugeordnet und fünf Arten sind in die Risikogruppe 2 eingestuft [7]. *C. nematophagum* ist nicht in den TRBA gelistet. Basierend auf der Analyse der 16S-rRNA-Sequenzen ist *C. nematophagum* am nächsten mit Chryseobakterien der Risikogruppe 1 verwandt [1].

## Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV wird *C. nematophagum* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

## Begründung

Bisher wurden zwei Isolate von *C. nematophagum* in dem Nematoden *C. briggsae* in Frankreich und Indien identifiziert. Die Bakterien befallen und töten bakterienfressende Nematodenarten, jedoch keine pflanzenfressenden Nematoden. Derzeit liegen keine Hinweise auf eine Infektion von anderen Tierarten einschließlich des Menschen vor. Zudem ist eine Besiedlung von warmblütigen Wirbeltieren unwahrscheinlich, da *C. nematophagum* bei 37 °C nicht wächst.

## Hinweis

Gentechnische Arbeiten, bei denen Nukleinsäureabschnitte von *C. nematophagum*, die für Virulenzfaktoren kodieren, auf einen Empfängerorganismus der **Risikogruppe 1** übertragen werden, können zu einer Höherstufung der GVO in die **Risikogruppe 2** führen.

## Literatur

1. **Page AP, Roberts M, Félix M-A, Pickard D, Page A, Weir W** (2019). The golden death bacillus *Chryseobacterium nematophagum* is a novel matrix digesting pathogen of nematodes. *BMC Biol* **17**(1):10.

2. **Vandamme P, Bernardet J-F, Segers P, Kersters K, Holmes B** (1994). NOTES: New Perspectives in the Classification of the Flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen. nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. rev. *Int J Syst Bact* **44**(4):827–31.
3. **Lasica AM, Ksiazek M, Madej M, Potempa J** (2017). The Type IX Secretion System (T9SS): Highlights and Recent Insights into Its Structure and Function. *Front Cell Infect Microbiol* **7**:215.
4. **Billington S** (2000). Thiol-activated cytolysins: structure, function and role in pathogenesis. *FEMS Microbiology Letters* **182**(2):197–205.
5. **Izaguirre-Anariba DE, Sivapalan V** (2020). *Chryseobacterium indologenes*, an Emerging Bacteria: A Case Report and Review of Literature. *Cureus* **12**(1):e6720.
6. **Sebastião F de, Loch TP, Marancik DP, Griffin MJ, Maret J, Richey C, Soto E** (2019). Identification of *Chryseobacterium* spp. isolated from clinically affected fish in California, USA. *Dis Aquat Organ* **136**(3):227–34.
7. **TRBA** (2015). Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen (TRBA 466) <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html>. Besucht am 16.08.2021.