ZKBS
Zentrale Kommission
für die Biologische Sicherheit

Az. 45241.0257 November 2023

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Providencia burhodogranariea*, *Providencia sneebia*, *Providencia thailandensis* und *Providencia vermicola* als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Gattung *Providencia* umfasst Gram-negative, fakultativ anaerobe, chemoorganotrophe, nicht sporulierende, bewegliche und stäbchenförmige Bakterienspezies, die in der Umwelt und auf Wirbeltieren einschließlich Menschen vorkommen [1]. Sie ist der Klasse der Gammaproteobakterien zugeordnet [2]. Einige Spezies der Gattung sind als tierische und humane Krankheitserreger beschrieben [3]. In der Arbeitnehmerschutzrichtlinie 2000/54/EG vom 18. September 2000 (geändert durch Richtlinie (EU) 2019/1833 vom 24. Oktober 2019) werden „*Providencia* spp." der Risikogruppe 2 zugeordnet, so dass sie auch in der Organismenliste der ZKBS der Risikogruppe 2 zugeordnet sind [4]. Inzwischen wurden der Gattung neue Spezies zugeordnet, darunter Vertreter, die Insekten kolonisieren.

Providencia burhodogranariea und *Providencia sneebia* wurden erstmalig aus Fruchtfliegen der Spezies *Drosophila melanogaster* in einer Apfelplantage in Pennsylvania (USA) isoliert [5]. *P. burhodogranariea* wurde auch aus roher Kuhmilch isoliert [6]. Der Wirt der beiden Bakterien, *D. melanogaster,* ist weltweit verbreitet [7]. Basierend auf Daten des *Microbe Atlas Projects* der Universität Zürich, der geolokalisierte Rohdaten von Metagenomanalysen anhand der 16S rRNA-Gensequenzen auswertet, sind beide Bakterienspezies ebenfalls weltweit verbreitet [8, 9]. Beide Bakterien wachsen in einem Temperaturbereich von 25 bis 37 °C, wobei 37 °C das Wachstumsoptimum darstellt [5]. In Infektionsstudien mit *D. melanogaster* wiesen beide Spezies ein pathogenes Potenzial auf [10]. Mit *P. burhodogranariea* infizierte Fruchtfliegen zeigten eine moderate Mortalität von circa 40 %. Die Infektion mit *P. sneebia* führte zu hohen Mortalitätsraten von >80 %. Beide Spezies sind nicht in der Lage, sich intrazellular in Drosophilazellkulturen zu vermehren. Gegenüber dem Leuchtkäfer *Photinus pyralis* und der Fruchtfliege *Anastrepha ludens* wies *P. sneebia* keine Pathogenität auf [11, 12]. Es liegen keine Berichte von Infektionen bei Wirbeltieren für beide Spezies vor. Das Genom beider Bakterien wurde vollständig sequenziert [13]. Beide Bakterien tragen Virulenzfaktorgene, die u. a. für ein Typ-3-Sekretionssystem und Adhäsionsmoleküle kodieren [13].

Providencia thailandensis wurde erstmalig aus Abwässern der Lebensmittelindustrie in Thailand isoliert [14]. Das Bakterium wächst im Temperaturbereich von 15 bis 45 °C und im pH-Bereich von 4 bis 12,5, wobei das Wachstumsoptimum zwischen 30 und 37 °C bzw. pH 6 und 7 liegt. *P. thailandensis* zeigt Wachstum bis zu einem Salzgehalt von 5 % NaCl (w/v) [14].

BVL_FO_05_4100_402_V1.8

Es liegen keine Berichte von Infektionen bei Wirbellosen, Wirbeltieren und Pflanzen für das Bakterium vor.

Providencia vermicola wurde erstmalig aus den entomopathogenen Nematoden *Steinernema thermophilum* und *Butlerius* sp. isoliert [15, 16]. Die Spezies lebt im Darmtrakt der entomopathogenen Nematoden in Symbiose und ist an der Tötung von Käferlarven beteiligt, die sowohl den Bakterien, wie auch dem Nematoden als Nahrungsgrundlage dienen [16]. Die Bakterien zeigen in Infektionsstudien an Larven der Zuckerrübeneule *Spodoptera exigua* und adulten Tieren der Fruchtfliege *Anastrepha ludens* eine hohe respektive moderate Mortalität [16, 12]. *P. vermicola* wächst bei Temperaturen bis zu 41 °C [15]. Es liegen Berichte über Infektionen beim Menschen und anderen Wirbeltieren vor. *P. vermicola* wurde zusammen mit *Vibrio cholerae* aus dem Stuhl eines männlichen 37-jährigen Patienten mit Durchfallerkrankung isoliert [17]. Beide Isolate wurden in Kaninchen mittels des *ligated ileal loop-assays* hinsichtlich ihres Potentials, Durchfall auszulösen untersucht. In diesem *assay* löste *P. vermicola* keinen Durchfall aus. Das Bakterium wurde außerdem aus dem Blut eines 58-jährigen Sepsispatienten mit unbekanntem Immunstatus isoliert [18]. Weiterhin wurde *P. vermicola* aus den Läsionen verstorbener indischer Karpfen (*Labeo rohita*) aus einer kommerziellen Fischfarm in Indien isoliert [19]. In Infektionsversuchen in Aquarien mit dem isolierten Stamm an gesunden indischen Karpfen verstarben diese in Abhängigkeit zur Infektionsdosis. Dabei entwickelten die Fische Schuppungen, Epithelabhebungen und -nekrosen sowie eine Degeneration des Knorpelgewebes [19]. Die mittlere letale Konzentration im Haltungswasser lag bei $5{,}1 \times 10^6$ koloniebildenden Einheiten (KBE) / mL nach 48 Stunden und die mittlere letale Dosis nach intramuskularer Injektion lag bei $1{,}89 \times 10^6$ KBE / Tier nach 84 Stunden. Die Genomsequenz für *P. vermicola* liegt vor und weist u. a. Virulenzfaktorgene für ein Typ-3-Sekretionssystem auf [18, 20]. Es liegen Berichte über Resistenzen gegenüber einzelnen Antibiotika aus den Gruppen der Aminoglycoside, Diaminopyrimidine, Polypeptid-Antibiotika, Sulfonamide und Tetrazykline vor [17].

In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 466 „Einstufung von Prokaryoten (Bacteria und Archaea)“ werden *P. burhodogranariea*, *P. sneebia*, *P. thailandensis* und *P. vermicola* in die Risikogruppe 1 eingestuft. *P. burhodogranariea* und *P. sneebia* sind zusätzlich mit „n“ gekennzeichnet[1].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV werden *Providencia burhodogranariea*, *Providencia sneebia* und *Providencia thailandensis* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV wird *Providencia vermicola* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

BVL_FO_05_4100_402_V1.8

Begründung

[1] Die Bemerkung „n“ bedeutet, dass das Bakterium pathogen für Nichtwirbeltiere (Wirbellose) ist.

Providencia burhodogranariea und *Providencia sneebia* sind nur für einige Nicht-Nutzinsekten als Erreger schwerer Erkrankungen beschrieben. Beide Bakterienspezies und ihr Wirt sind weltweit verbreitet. Es liegen keine Hinweise auf ein Gefährdungspotential für den Menschen, andere Tiere oder die Umwelt vor. Daher erfolgt die Einstufung in Anlehnung an die Kriterien der allgemeinen Stellungnahme der ZKBS zu Kriterien der Risikobewertung von Viren mit einem ausschließlichen Wirtsbereich für Insekten, Az. 45310.0120 vom September 2021.

Für *Providencia thailandensis* liegen keine Hinweise auf ein pathogenes Potential für Menschen, Tiere oder die Umwelt vor.

Bei *Providencia vermicola* handelt es sich um ein insektenassoziiertes Bakterium, welches den Menschen und andere Tiere besiedeln kann und in Fischen teils schwere Infektionen auslöst. Daher ist von einem geringen Gefährdungspotential für Fische auszugehen.

Literatur

1. **Penner JL** (2015). *Providencia*. *In* Bergey's Manual Trust (Hrsg.), Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria, S. 1–26. John Wiley & Sons, Inc.
2. **List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature**. Genus Providencia https://lpsn.dsmz.de/genus/providencia. Besucht am 07.11.2023.
3. **Manos J, Belas R** (2006). The Genera Proteus, Providencia, and Morganella. *In* Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E (Hrsg.), The Prokaryotes: A Handbook on the Biology of Bacteria Volume 6: Proteobacteria: Gamma Subclass, S. 245–69. Springer New York, New York, NY.
4. **ZKBS**. Organismen-Datenbank https://zag.bvl.bund.de/organismen/detail.jsf?dswid=7520&dsrid=898&id=2607. Besucht am 24.10.2023.
5. **Juneja P, Lazzaro BP** (2009). *Providencia sneebia* sp. nov. and *Providencia burhodogranariea* sp. nov., isolated from wild *Drosophila melanogaster*. *Int J Syst Evol Microbiol* **59**(5):1108–11.
6. **Owoseni AA, Adigun TO, Asogbon OH, Atobatele BO, Adeleke OA, Nejo YT** (2023). Presence of Antibiotic Resistance Genes in Bacteria Isolated from Raw Cow Milk obtained from Bowen University Dairy Farm. *IOP Conf Ser Earth Environ Sci* **1219**(1):1–9.
7. **GBIF Backbone Taxonomy**. *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 https://www.gbif.org/species/5073713. Besucht am 27.10.2023.
8. **MICROBEATLAS MAPseq**. *Providencia vermicola, Providencia sneebia, Providencia rettgeri, Providencia huaxiensis* https://microbeatlas.org/index.html?action=taxon&taxon_id=90_6;96_362;97_407;98_466;99_1898&stattab=map
9. **MICROBEATLAS MAPseq**. *Providencia burhodogranariea*, *Providencia alcalifaciens* https://microbeatlas.org/index.html?action=taxon&taxon_id=90_6;96_362;97_407;98_466;99_935&stattab=map. Besucht am 27.10.2023.
10. **Galac MR, Lazzaro BP** (2011). Comparative pathology of bacteria in the genus *Providencia* to a natural host, *Drosophila melanogaster*. *Microbes Infect* **13**(7):673–83.
11. **Lower SE, Gilani O, Tuffy MJ, Patel DN, Zhu Z, Chambers MC** (2023). Host condition and pathogen identity influence bacterial infection survival in the common eastern firefly, *Photinus pyralis*. *Ecol Entomol* **48**(1):90–101.
12. **Salas B, Conway HE, Vacek DC, Vitek C, Schuenzel EL** (2023). Pathogenicity of multiple *Providencia* species (Enterobacteriales: Morganellaceae) to the mass-reared Mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J Insect Sci* **23**(3):1–11.
13. **Galac MR, Lazzaro BP** (2012). Comparative genomics of bacteria in the genus *Providencia* isolated from wild *Drosophila melanogaster*. *BMC Genomics* **13**(1):1–18.

14. **Khunthongpan S, Sumpavapol P, Tanasupawat S** (2013). *Providencia thailandensis* sp. nov., isolated from seafood processing wastewater. *J Gen Appl Microbiol* **59**(3):185–90.
15. **Somvanshi VS, Lang E, Sträubler B, Spröer C, Schumann P, Ganguly S, Saxena AK, Stackebrandt E** (2006). *Providencia vermicola* sp. nov., isolated from infective juveniles of the entomopathogenic nematode *Steinernema thermophilum*. *Int J Syst Evol Microbiol* **56**(3):629–33.
16. **Yi Y-K, Park HW, Shrestha S, Seo J, Kim YO, Shin CS, Kim Y** (2007). Identification of two entomopathogenic bacteria from a nematode pathogenic to the Oriental beetle, *Blitopertha orientalis*. *J Microbiol Biotechnol* **17**(6):968–78.
17. **Rajpara N, Kutar, Braj M. R. N. S., Sinha R, Nag D, Koley H, Ramamurthy T, Bhardwaj AK** (2015). Role of integrons, plasmids and SXT elements in multidrug resistance of *Vibrio cholerae* and *Providencia vermicola* obtained from a clinical isolate of diarrhea. *Front Microbiol* **6**:1–11.
18. **Lupande-Mwenebitu D, Khedher MB, Khabthani S, Rym L, Phoba M-F, Nabti LZ, Lunguya-Metila O, Pantel A, Lavigne J-P, Rolain J-M, Diene SM** (2021). First Genome Description of *Providencia vermicola* Isolate Bearing NDM-1 from Blood Culture. *Microorganisms* **9**(8):1–11.
19. **Ramkumar R, Ravi M, Jayaseelan C, Abdul Rahuman A, Anandhi M, Rajthilak C, Perumal P** (2014). Description of *Providencia vermicola* isolated from diseased Indian major carp, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). *Aquaculture* **420-421**:193–7.
20. **Andolfo G, Schuster C, Gharsa HB, Ruocco M, Leclerque A** (2021). Genomic analysis of the nomenclatural type strain of the nematode-associated entomopathogenic bacterium *Providencia vermicola*. *BMC Genomics* **22**(1):1–21.

BVL_FO_05_4100_402_V1.8