

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Bacillus cereus bv. *anthracis* CAR-H
als Spender- oder Empfängerorganismus
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Bacillus cereus bv. *anthracis* ist ein Biovar von *B. cereus*, das von Schimpansen aus Afrika isoliert wurde. Die Schimpansen waren an einer Anthrax-ähnlichen Erkrankung mit Hämorrhagien der inneren Organe sowie Lungenödemen und -emphysemen verstorben [1]. *B. cereus* bv. *anthracis* stellt somit ein *B. cereus*-Biovar dar, dessen Pathogenität mit der von *B. anthracis* vergleichbar ist, so dass *B. cereus* bv. *anthracis* genauso wie *B. anthracis* durch die ZKBS im Jahr 2010 der **Risikogruppe 3** zugeordnet wurde (Az. 6790-01-1695).

B. cereus bv. *anthracis* trägt zwei Virulenzplasmide, pBCXO1 und pBCXO2, die den Virulenzplasmiden pXO1 und pXO2 von *B. anthracis* stark ähneln. Bei den auf pXO1 lokalisierten Virulenzfaktorgenen von *B. anthracis* handelt es sich um die Gene für die Komponenten des Toxinkomplexes, den Letalfaktor LF, den Ödemfaktor EF und das protektive Antigen PA. Auf dem Plasmid pXO2 sind die Gene lokalisiert, die für Synthese und Abbau der Polyglutaminsäurekapsel benötigt werden [2, 3]. Den für die Impfung gegen Anthrax eingesetzten Stämmen der Veterinär- bzw. Humanimpfstoffe fehlt meist eines der Plasmide. Impfstämmen vom „Pasteur-Typ“ fehlt das Plasmid pXO1, während *B. anthracis*-Impfstämmen wie Sterne oder dem russischen Stamm STI-1 das Plasmid pXO2 fehlt. Diese Impfstämme werden der **Risikogruppe 2** zugeordnet, da sie zwar attenuiert sind, aber eine Restpathogenität erhalten bleibt. Diese äußert sich darin, dass die Impfstämme im besonders suszeptiblen Wirtsorganismus Maus letal sein können (s. auch [Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von *Bacillus anthracis* BH490, BH500 und BH510](#) als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV, Az. 45241.0169 vom Dezember 2017).

Die Entfernung von pBCXO2 aus dem Genom von *B. cereus* bv. *anthracis* und damit verbunden der Polyglutaminsäurekapsel führte nicht zu einer ähnlich deutlichen Reduktion der Virulenz von *B. cereus* bv. *anthracis* wie die Entfernung von pXO2 aus dem Genom von *B. anthracis* [4]. Dies liegt daran, dass *B. cereus* bv. *anthracis* im Gegensatz zu *B. anthracis* zusätzlich zur Polyglutaminsäurekapsel über eine Hyaluronankapsel verfügt. Die Biosynthesegene für die Hyaluronankapsel sind als *hasABC*-Operon auf pBCXO1 lokalisiert [5].

Im Rahmen dieser Stellungnahme wird der Stamm *B. cereus* bv. *anthracis* CAR-H bewertet, dem pBCXO2 vollständig fehlt und in dessen Gen *hasA*, kodierend für die Hyaluronat synthase, die zentralen 1300 bp durch eine Spectinomycinresistenzkassette ersetzt wurden.

Die Pathogenität von *B. cereus* bv. *anthracis* CAR-H wurde im Mausmodell untersucht (s. Tab. 1).

Tab. 1: Vergleich der Pathogenität von verschiedenen Stämmen von *B. anthracis* bzw. *B. cereus* bv. *anthracis*

Stamm	LD ₅₀ (kutan) [cfu]	LD ₅₀ (intranasal) [cfu]
<i>B. anthracis</i> (Wildtyp)	n. d.	10 ⁴
<i>B. cereus</i> bv. <i>anthracis</i> (Wildtyp)	60	2,5 x 10 ⁴
<i>B. anthracis</i> pXO2 ⁻	4 x 10 ⁵	> 10 ^{8*}
<i>B. cereus</i> bv. <i>anthracis</i> CAR-H	3 x 10 ⁵	> 10 ^{8*}

Werte entnommen aus [6]; cfu: *colony forming units*; LD₅₀: letale Dosis für die Hälfte der Versuchstiere bei kutaner bzw. intranasaler Verabreichung; n. d.: nicht bestimmt; *: in dieser Versuchsgruppe verstarben keine Tiere

Im Vergleich zum *B. cereus* bv. *anthracis*-Wildtypstamm ist die Pathogenität von *B. cereus* bv. *anthracis* CAR-H sowohl bei kutaner als auch bei intranasaler Verabreichung deutlich reduziert. Sie ist vergleichbar mit der eines *B. anthracis*-Stamms, dem pXO2 fehlt.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird ***Bacillus cereus* bv. *anthracis* CAR-H** als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Die Pathogenität von *B. cereus* bv. *anthracis* CAR-H ist stark reduziert und vergleichbar mit der von *B. anthracis*-Stämmen ohne pXO2, die als Impfstämme genutzt werden. Da eine Restpathogenität erhalten bleibt und somit ein geringes Gefährdungspotential besteht, wird *B. cereus* bv. *anthracis* CAR-H der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Literatur

1. Klee SR, Ozel M, Appel B, Boesch C, Ellerbrok H, Jacob D, Holland G, Leendertz FH, Pauli G, Grunow R, Nattermann H (2006). Characterization of *Bacillus anthracis*-like bacteria isolated from wild great apes from Cote d'Ivoire and Cameroon. *J Bacteriol* **188**(15):5333–44.
2. Drysdale M, Bourgogne A, Hilsenbeck SG, Koehler TM (2004). AtxA controls *Bacillus anthracis* capsule synthesis via AcpA and a newly discovered regulator, AcpB. *J Bacteriol* **186**(2):307–15.
3. Koehler TM (2002). *Bacillus anthracis* Genetics and Virulence Gene Regulation. p. 143–64. In Koehler TM (ed), Anthrax, vol. 271. Springer, Berlin.
4. Klee SR, Brzuszkiewicz EB, Nattermann H, Brüggemann H, Dupke S, Wollherr A, Franz T, Pauli G, Appel B, Liebl W, Couacy-Hymann E, Boesch C, Meyer F-D, Leendertz FH, Ellerbrok H, Gottschalk G, Grunow R, Liesegang H (2010). The genome of a *Bacillus* isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One* **5**(7):e10986.
5. Oh S-Y, Budzik JM, Garufi G, Schneewind O (2011). Two capsular polysaccharides enable *Bacillus cereus* G9241 to cause anthrax-like disease. *Mol Microbiol* **80**(2):455–70.
6. Brézillon C, Haustant M, Dupke S, Corre J-P, Lander A, Franz T, Monot M, Couture-Tosi E, Jouvion G, Leendertz FH, Grunow R, Mock ME, Klee SR, Goossens PL (2015). Capsules, Toxins and AtxA as Virulence Factors of Emerging *Bacillus cereus* Biovar *anthracis*. *PLoS Negl Trop Dis* **9**(4):e0003455.