

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
***Brucella anthropi*, *Brucella ceti*, *Brucella inopinata*, *Brucella intermedia*,**
***Brucella microti*, *Brucella papionis*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella vulpis*,**
***Brucella* sp. BO2 und aus Amphibien, Nagetieren, Reptilien und Fischen**
isolierte *Brucella* spp.
als Spender- oder Empfängerorganismen gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Die Gattung *Brucella* umfasst Gram-negative, aerobe, chemoorganotrophe, nicht sporulierende, kokkoide oder stäbchenförmige Bakterienspezies, die in Böden, Gewässern, auf Säugetieren und dem Menschen vorkommen [1]. Spezies der Gattung *Ochrobactrum* wurden 2020 aufgrund gemeinsamer phylogenetischer Eigenschaften in die Gattung *Brucella* überführt [2]. Einige Spezies der Gattung sind als epizootische und zoonotische Erreger beschrieben. Beim Menschen sind sie Auslöser der Brucellose. Brucellen besitzen eine intrazelluläre Lebensweise und infizieren *in natura* Monozyten und vermehren sich in diesen Zellen [1]. *In vitro* sind Bakterien der Gattung auch auf Nährmedien kultivierbar [1]. Im Zuge neuer technischer Entwicklungen in phylogenetischen Analysen und der Sequenzierung von Genomen wurden der Gattung neue Spezies und Isolate zugeordnet, darunter Vertreter, die Amphibien, Nagetiere, Säugetiere und den Menschen kolonisieren.

Bei *Brucella anthropi* (vormals *Ochrobactrum anthropi* [2]) handelt es sich um klinische Isolate, die vor 1988 als *Achromobacter* Group Vd klassifiziert wurden [3]. Das Bakterium ist polar begeißelt. Das Wachstumsoptimum liegt im Bereich von 20 bis 37 °C [3]. Das Bakterium ist weit verbreitet und wurde von Kröten, Menschen, Schweinen und Truthühnern sowie aus Böden und Kläranlagen isoliert [4–11]. Das Bakterium kann Entzündungen des Bauchfells, von Gelenken, der Lunge und der Herzhinnenhaut, Meningitiden, Bakteriämien und Sepsen beim Menschen hervorrufen [6, 7]. Aus der Veterinärmedizin ist *B. anthropi* als Verursacher von Infektionen der Wirbelsäulengelenke bei Kröten [11] und Meningitisfällen bei Schweinen bekannt [10]. Die Übertragung des Erregers erfolgt durch direkte oder indirekte Kontakte und ist bei nosokomialen Infektionen meist katheterassoziiert [7]. Es liegen Berichte über Resistenzen gegenüber einzelnen Antibiotika aus den Gruppen der β -Laktame, Cephalosporine, Diaminopyrimidine, Monobaktame und Sulfonamide vor [12, 13]. Für die Pathogenität der Spezies sind verschiedene Brucellen-spezifische Virulenzfaktoren essenziell, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane und das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [14]. In der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ ist die Spezies der Risikogruppe 2 zugeordnet [15].

In den 1990er Jahren wurden erstmalig *Brucella* spp. aus marinen Säugetieren isoliert. Die vorrangig aus Walen und Robben stammenden Isolate wurden zunächst der neuen Spezies *Brucella maris* zugeordnet [16]. Auf Grundlage phylogenetischer Analysen und dem unterschiedlichen Pathogenitätspotenzial gegenüber den natürlichen Wirten erfolgte 2007 eine Zuordnung für Robben-spezifische Isolate zur Spezies *Brucella pinnipedialis* und für Wal-spezifische Isolate zur Spezies *Brucella ceti* [17]. Beide Bakterienspezies sind unbeweglich. Die Spezies wachsen im Temperaturbereich zwischen 20 und 40 °C und in einem pH-Bereich von 6,6 bis 7,4. Das Wachstumsoptimum liegt bei 37 °C [17]. Bisher traten die marinen Brucellen nur selten als Krankheitserreger bei immunkompetenten Menschen auf. In zwei Fällen wurde die Bakterien als Verursacher einer neuralen Brucellose und in einen weiteren Fall als Verursacher einer Knochenmarksentzündung beschrieben [18, 19]. Als Übertragungsweg wird der Verzehr von rohem Fisch oder Meeresfrüchten vermutet. Fische werden als Vektor diskutiert, da sie experimentell mit *B. pinnipedialis* infiziert werden konnten [20]. Beide Spezies sind bei ihren natürlichen Wirten enzootisch verbreitet [21, 22]. Da *B. ceti* bisher nur aus gestrandeten, erkrankten Tieren isoliert wurde, ist das pathogene Potenzial der Spezies in Walpopulationen schwer abzuschätzen. Das Bakterium wurde aus Milchdrüsen, den primären männlichen und weiblichen Geschlechtsorganen, Hautabszessen, Herzmuskel, Gehirngewebe, Milz, Leber, Niere, Knochen und Gelenken verendeter Tiere isoliert [22]. Die verendeten Tiere wiesen Brucellose-typische Symptome wie Entzündungen des Herzzinnengewebes, des Gehirns, der Gelenke und der Knochen auf [22]. Der Übertragungsweg ist nicht bekannt, jedoch wird eine Übertragung durch Geschlechtsverkehr, Säugen, perinatal oder durch Vektoren, wie besiedelte Fische oder Parasiten, angenommen. *B. pinnipedialis* gilt als apathogen für Robben [21, 23]. Einzelne *B. pinnipedialis*-Isolate wurden aus verendeten Walen isoliert und als Erreger einer neuronalen Brucellose identifiziert [24, 25]. Das pathogene Potenzial beider Spezies basiert auf der Präsenz von Brucellen-spezifischen Virulenzfaktoren, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane, das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [22, 26, 27]. In Infektionsstudien im Mausmodell und an humanen Makrophagen war die Pathogenität beider Spezies geringer als die von *Brucella suis* [28, 29]. *B. ceti* und *B. pinnipedialis* sind in der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ der Risikogruppe 2 zugeordnet [15].

Brucella inopinata wurde erstmalig aus der Wundflüssigkeit einer 71-jährigen Brucellose-Patientin isoliert [30]. Das Bakterium ist unbeweglich. Es wächst im Temperaturbereich von 25 bis 42 °C [31]. Weitere klinische Fälle mit dem Erreger sind nicht beschrieben. *B. inopinata* besitzt Brucellen-typische Virulenzfaktoren, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane, das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [32]. In Infektionsstudien im Mausmodell und in murinen Makrophagen erwies sich *B. inopinata* als deutlich pathogener als *B. suis* [33]. Die niedrigste tödliche Dosis vom *B. inopinata* liegt im Mausmodell bei peritonealer Injektion bei 10⁵ koloniebildenden Einheiten (KBE). Die Infektion mit *B. suis* ist für Mäuse nicht letal. In der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ und der Arbeitnehmerschutzrichtlinie EU2019/1833 gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit ist die Spezies der Risikogruppe 3 zugeordnet [15, 34].

Bei *Brucella intermedia* (vormals *Ochrobactrum intermedium* [2]) handelt es sich um vormalig als *B. anthropi* klassifizierte klinische Isolate, die aufgrund ihrer phylogenetischen Eigenschaften einem eigenen Cluster innerhalb der Gattung *Brucella* zuzuordnen sind [35].

Das Bakterium ist polar begeißelt. Es wächst im Bereich von 18 bis 45 °C [35, 36]. Bei dem Bakterium handelt es sich um einen weit verbreiteten Erreger, der auf Säugetieren einschließlich Menschen, Fadenwürmern, Insekten, Pflanzen, in Böden und in Gewässern vorkommt [37–40]. Unabhängig vom Immunstatus ist das Bakterium bei infizierten Menschen assoziiert mit Abszessen der Leber, Entzündungen der Herzhinnenhaut, Bakteriämien und Sepsen [39, 41]. Aus der Veterinärmedizin sind *B. intermedia*-ausgelöste Brucellosen in Kühen beschrieben [40]. Die Übertragung des Erregers erfolgt durch direkte oder indirekte Kontakte und ist bei nosokomialen Infektionen meist katheterassoziiert [41]. Es liegen Berichte über Resistenzen gegenüber einzelnen Antibiotika aus den Gruppen der β -Laktame, Aminoglykoside, Cephalosporine und Monobaktame vor [41]. Für die Pathogenität der Spezies sind verschiedene Virulenzfaktoren essenziell, darunter das Flagellum und das Typ-IV-Sekretionssystem [42]. Einige Rhizosphären-Isolate besitzen Eigenschaften, die das Pflanzenwachstum fördern [38]. In der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ ist die Spezies der Risikogruppe 2 zugeordnet [15].

Brucella microti wurde erstmalig aus Feldmäusen in Tschechien isoliert und ist in Feldmauspopulationen epizootisch verbreitet [43]. Das Bakterium kommt auch in Böden, Füchsen und Wildschweinen in Mitteleuropa vor [44–46]. *B. microti* wurde auch aus Amphibien in kommerziellen Froschzuchtbetrieben isoliert [47]. Für Feldmäuse ist das Bakterium pathogen und verursacht schwere systemische Erkrankungen [44]. In Fröschen ist es mit Hautabszessen assoziiert [47]. Für andere Wirte ist das Bakterium apathogen [45, 46]. *B. microti* trat bisher nicht als humanpathogener Erreger auf. Das Bakterium ist unbeweglich. Es wächst im Temperaturbereich von 25 bis 42 °C [44]. *B. microti* besitzt Brucellen-typische Virulenzfaktoren, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane, das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [48]. In Infektionsstudien in Hühnerembryonen und Mausmodellen und an humanen und murinen Makrophagen erwies sich *B. microti* als pathogener als *B. suis* [49–51]. Die niedrigste tödliche Dosis liegt im Mausmodell bei peritonealer Injektion zwischen 10^4 und 10^5 KBE [33, 50]. Das Bakterium kann gut in sauren Milieus überleben und ist somit in der Lage, über den oralen Infektionsweg Mäuse zu infizieren [52]. Es liegen Berichte über Resistenzen gegenüber einzelnen Antibiotika aus den Gruppen der β -Laktame, Cephalosporine und Polymyxine vor [45]. In der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ ist die Spezies der Risikogruppe 2 zugeordnet [15].

Brucella papionis wurde aus der Plazenta von Pavianen isoliert [53]. Das Bakterium ist unbeweglich. Das Temperaturoptimum liegt bei 37 °C [53]. Das Bakterium wurde bisher nur aus Pavianen isoliert und ist bei diesen assoziiert mit Fehlgeburten [54]. *B. papionis* ist *in vitro* in der Lage, humane Trophoblasten zu infizieren, was die Hormonproduktion, das Differenzierungspotenzial und die Invasionskapazität der Zellen verändert [54]. Für die Infektion von Trophoblasten und anderen humanen Zelltypen ist die Expression des Typ-IV-Sekretionssystemes essentiell [54]. In der TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)“ ist die Spezies der Risikogruppe 2 zugeordnet [15].

Brucella vulpis wurde aus Lymphknoten zweier Rotfüchse in Mitteleuropa isoliert [55]. Das Bakterium ist unbeweglich. Es wächst im Temperaturbereich von 30 bis 37 °C [56]. Das pathogene Potenzial innerhalb von Fuchspopulationen ist unbekannt. Bisher wurden keine Infektionen durch *B. vulpis* beim Menschen beschrieben. *B. vulpis* besitzt Brucellen-typische Virulenzfaktoren, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane, das N-Formyl-Perosamin-basierte O-

Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [56].

In den letzten zwanzig Jahren wurden neue *Brucella*-Isolate beschrieben, die sich phylogenetisch keiner der bereits bekannten *Brucella*-Spezies zuordnen lassen. Phylogenetisch bilden diese Isolate spezifische Kladen. Diese umfassen humanpathogene Isolate, wie *Brucella* sp. BO2, und Isolate aus Amphibien, Nagetieren, Reptilien und Fischen[57].

Brucella sp. BO2 entstammt einer Lungenbiopsie eines 52-jährigen Patienten mit chronischer destruktiver Lungenentzündung [58]. Der Stamm zeichnet sich durch die Synthese eines Rhamnose-basierten O-Antigens aus. Zusätzlich besitzt der Stamm Brucellen-typische Virulenzfaktoren, wie zyklische Beta-1,2-Glukane sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [32].

Aus Amphibien isolierte *Brucella* spp. wurden aus morbidem und toten Afrikanischen Ochsenfröschen, Korallenfinger-Laubfröschen und Hornfröschen isoliert [59–62]. Diese Isolate sind begeißelt [59–62]. Ein Isolat aus Amphibien gilt als Erreger einer Brucellose bei einem 28-jährigen Patienten [63]. Dieses klinische Isolat und andere aus Amphibien stammende Isolate besitzen Brucellen-typische Virulenzfaktoren, darunter zyklische Beta-1,2-Glukane, das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen sowie das *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-System und das Typ-IV-Sekretionssystem [60, 61, 63].

Nagetierisolate wurden aus Feldmäusen, Langschwanzmäusen, Ratten, Waldmäusen und Wühlmäusen isoliert [64, 65]. Die Isolate sind unbeweglich. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 35 und 37 °C [64]. Das pathogene Potenzial innerhalb von Nagetierpopulationen ist unbekannt. Bislang wurden keine Infektionen durch Nagetierisolate beim Menschen beschrieben. In Infektionsstudien im Mausmodell und an murinen Makrophagen war ein Isolat aus Ratten deutlich pathogener als *B. suis* [33]. Die niedrigste letale Infektionsdosis liegt im Mausmodell bei peritonealer Injektion bei 10⁵ KBE. Das Genom einzelner Isolate liegt vollständig sequenziert vor und weist Brucellen-typische Virulenzfaktoren auf, darunter Gene zur Synthese von zyklischen Beta-1,2-Glukanen und N-Formyl-Perosamin-basiertem O-Antigen und zur Expression des *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-Systems und des Typ-IV-Sekretionssystems [66].

Ein *Brucella*-Isolat wurde aus einem Blaupunktrochen (*Taeniura lymma*) isoliert [67]. Der Blaupunktrochen war Teil einer Gruppe von fünf Rochen, die nach einem Fang vor Bali in einem Zoo vor ihrer Übersiedlung in Aquarien mit weiteren Fischen in Quarantäne gehalten worden war. Alle Tiere der Gruppe verstarben innerhalb von sechs Monaten. In der Veröffentlichung zu diesem Vorfall sind keine Krankheitssymptome der Rochen beschrieben. Zwei der Rochen wurden autopsiert, wobei ihre Kadaver zu diesem Zeitpunkt bereits stark verwest waren. Bei der Autopsie wurde neben *Vibrio harvey*-Isolaten auch ein Bakterium isoliert, das anhand physiologischer Merkmale als *B. anthropi* und mittels MALDI-TOF MS zunächst als *B. melitensis* identifiziert wurde. Nachdem zusätzlich MALDI-TOF MS-Spektren anderer atypischer *Brucella* spp. berücksichtigt worden waren, konnten sowohl die anderen atypischen *Brucella* spp. als auch das Isolat aus dem Rochen anhand ihrer Spektren klar von *B. melitensis* unterschieden werden. Eine Unterscheidung zwischen *Brucella* spp. aus Amphibien und dem Isolat aus dem Rochen war jedoch nicht möglich. Das Genom des Isolates wurde sequenziert. Es umfasst Gene für Brucellen-typische Virulenzfaktoren wie das Typ-IV-Sekretionssystem und Gene für die Aufnahme und den Katabolismus von L-Rhamnose, nicht

jedoch für das N-Formyl-Perosamin-basierte O-Antigen. Die Nukleotidsequenz vieler Gene ist sehr ähnlich zu der homologer Gene aus *B. inopinata* und *Brucella* sp. BO2, während die Nukleotidsequenz des *recA*-Gens am meisten der einiger *Brucella*-Isolate aus Amphibien aus demselben Zoo ähnelt. Die Isolate aus dem Rochen und aus den Amphibien gehören jedoch nicht der gleichen klonalen Linie an.

Auch aus einem Pantherchamäleon (*Furcifer pardalis*) wurde ein Vertreter der Gattung *Brucella* spp. isoliert [68]. Das erkrankte Chamäleon stammte aus demselben Zoo, in dem die o. g. Rochen gehalten worden waren. Das Chamäleon litt unter Gewichtsverlust und geschwollenen Gelenken und musste aufgrund dessen eingeschläfert werden. Aus allen untersuchten Geweben (Lunge, Leber, Milz, Nieren, geschwollene Gelenke, Eingeweide und ein Ovidukt) wurden unbewegliche Brucellen sowie Isolate von *Vagococcus fluvialis*, *Staphylococcus sciuri*, und *Pseudomonas aeruginosa* angereichert sowie aus der Lunge das Reptilienpathogen *Devriesea agamarum*. Anhand physiologischer Merkmale wurden die *Brucella*-Isolate als Vertreter der Spezies *B. anthropi* und mittels MALDI-TOF MS als Vertreter der Gattung *Brucella* identifiziert, wobei ihr MALDI-TOF MS-Spektrum dem des o. g. Isolates aus dem Rochen am ähnlichsten war. Das Genom eines Isolates wurde sequenziert. Es enthält Gene für klassische *Brucella*-Virulenzfaktoren wie Proteine, die an der Immunevasion und der Eisenaufnahme beteiligt sind, die Gene des Typ-IV-Sekretionssystems und des *bvrR/bvrS*-Zweikomponenten-Systems, ein Gen für die Synthese von zyklischen Beta-1,2-Glukanen und Gene mit Homologie zu einem Virulenz-assoziierten Protein sowie Flagellen aus *Bartonella*-Spezies. Auch die *recA*-Nukleotidsequenz dieses Isolates ähnelte der einiger *Brucella*-Isolate aus Amphibien aus demselben Zoo am meisten. Das Isolat gehört jedoch ebenfalls nicht der gleichen klonalen Linie an wie die aus dem Rochen und aus den Amphibien.

Empfehlung

Brucella anthropi, *Brucella ceti*, *Brucella inopinata*, *Brucella intermedia*, *Brucella microti*, *Brucella papionis*, *Brucella pinnipedialis*, *Brucella vulpis*, *Brucella* sp. BO2 und aus Amphibien, Nagetieren, Fischen und Reptilien isolierte *Brucella* spp. werden gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Die Vertreter der Gattung *Brucella* kommen in der Umwelt sowie bei Amphibien, Fischen, Reptilien, terrestrischen und marinen Säugertieren und dem Menschen vor. *B. anthropi*, *B. ceti*, *B. inopinata*, *B. intermedia*, *B. papionis*, *B. pinnipedialis*, *Brucella* sp. BO2 und einzelne aus Amphibien isolierte *Brucella* spp. sind für Menschen und/oder ihren natürlichen Wirt als pathogene Erreger beschrieben, die ernste Erkrankungen auslösen können. Brucellosen sind in der Regel jedoch gut behandelbar. In den Genomen dieser Brucellen und *B. microti*, *B. vulpis* sowie in denen aus Nagetieren isolierter *Brucella*-Spezies liegen Gene für Brucellen-spezifische Virulenzfaktoren vor. Daher ist anzunehmen, dass von diesen *Brucella*-Spezies und -Isolaten ein pathogenes Potenzial für Mensch und/oder Tiere ausgeht.

Literatur

1. **Scholz HC, Banai M, Cloeckert A, Kämpfer P, Whatmore AM** (2018). *Brucella*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* **18**:1–38.
2. **Hördt A, López MG, Meier-Kolthoff JP, Schleuning M, Weinhold L-M, Tindall BJ, Gronow S, Kyrpidis NC, Woyke T, Göker M** (2020). Analysis of 1,000+ Type-Strain Genomes Substantially Improves Taxonomic Classification of *Alphaproteobacteria*. *Front Microbiol* **11**:1–112.
3. **Holmes B, Popoff M, Kiredjian M, Kersters K** (1988). *Ochrobactrum anthropi* gen. nov., sp. nov. from Human Clinical Specimens and Previously Known as Group Vd. *Int J Syst Evol Microbiol* **38**(4):406–16.
4. **Ibrahim HMM** (2016). Biodegradation of used engine oil by novel strains of *Ochrobactrum anthropi* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 isolated from oil-contaminated soil. *3 Biotech* **6**(2):1–13.
5. **Ren J, Bai X, Liu Y, Huang X** (2021). Simultaneous nitrification and aerobic denitrification by a novel isolated *Ochrobactrum anthropi* HND19. *Bioresour Technol* **340**:1–8.
6. **Mahmood MS, Sarwari AR, Khan MA, Sophie Z, Khan E, Sami S** (2000). Infective Endocarditis and Septic Embolization with *Ochrobactrum anthropi*: Case Report and Review of Literature. *J Infect* **40**(3):287–90.
7. **Vaidya SA, Citron DM, Fine MB, Murakami G, Goldstein EJC** (2006). Pelvic Abscess Due to *Ochrobactrum anthropi* in an Immunocompetent Host: Case Report and Review of the Literature. *J Clin Microbiol* **44**(3):1184–6.
8. **Tobias NJ, Mishra B, Gupta DK, Ke LP, Thines M, Bode HB** (2015). Draft Genome Sequence of *Ochrobactrum anthropi* Strain ML7 Isolated from Soil Samples in Vinhphuc Province, Vietnam. *Genome Announc* **3**(2):1-2.
9. **ElAdawy H, Hotzel H, Tomaso H, Neubauer H, Hafez HM** (2012). Isolation and characterization of *Ochrobactrum anthropi* and *Ochrobactrum pecoris* from caecal content of commercial turkeys. *Vet Microbiol* **155**(2):349–54.
10. **Gu S, Hou R, Gao S, Sun Z, Li X, Zhai L, Jin Y, Zhu Q, Liao Y, Tian K** (2020). First Isolation and Characterization of *Ochrobactrum anthropi* from Pig. *Engineering (Beijing)* **6**(1):49–55.
11. **Shilton CM, Brown GP, Benedict S, Shine R** (2008). Spinal Arthropathy Associated with *Ochrobactrum anthropi* in Free-ranging Cane Toads (*Chaunus [Bufo] marinus*) in Australia. *Vet Pathol* **45**(1):85–94.
12. **Naik C, Kulkarni H, Darabi A, Bhanot N** (2013). *Ochrobactrum anthropi*: a rare cause of pneumonia. *J Infect Chemother* **19**(1):162–5.
13. **Gransden WR, Eykyn SJ** (1992). Seven Cases of Bacteremia Due to *Ochrobactrum anthropi*. *Clin Infect Dis* **15**(6):1068–9.
14. **Lama M, Chanakya PP, Khamari B, Peketi ASK, Kumar P, Muddu GK, Nagaraja V, Bulagonda EP** (2021). Genomic analysis of a multidrug-resistant *Brucella anthropi* strain isolated from a 4-day-old neonatal sepsis patient. *J Glob Antimicrob Resist* **26**:227–9.
15. **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 26.07.2022.
16. **Jahans KL, Foster G, Broughton ES** (1997). The characterisation of *Brucella* strains isolated from marine mammals. *Vet Microbiol* **57**(4):373–82.
17. **Foster G, Osterman BS, Godfroid J, Jacques I, Cloeckert A** (2007). *Brucella ceti* sp. nov. and *Brucella pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J Syst Evol Microbiol* **57**(Pt 11):2688–93.
18. **Sohn AH, Probert WS, Glaser CA, Gupta N, Bollen AW, Wong JD, Grace EM, McDonald WC** (2003). Human neurobrucellosis with intracerebral granuloma caused by a marine mammal *Brucella* spp. *Emerg Infect Dis* **9**(4):485–8.
19. **McDonald WL, Jamaludin R, Mackereth G, Hansen M, Humphrey S, Short P, Taylor T, Swinger J, Dawson CE, Whatmore AM, Stubberfield EJ, Perrett LL, Simmons G** (2006). Characterization of a *Brucella* sp. strain as a marine-mammal type despite isolation from a patient with spinal osteomyelitis in New Zealand. *J Clin Microbiol* **44**(12):4363–70.

20. **Nymo IH, Seppola M, Al Dahouk S, Bakkemo KR, Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Godfroid J, Larsen AK** (2016). Experimental Challenge of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) with a *Brucella pinnipedialis* Strain from Hooded Seal (*Cystophora cristata*). *PLoS One* **11**(7):1-18.
21. **Tryland M, Sørensen KK, Godfroid J** (2005). Prevalence of *Brucella pinnipediae* in healthy hooded seals (*Cystophora cristata*) from the North Atlantic Ocean and ringed seals (*Phoca hispida*) from Svalbard. *Vet Microbiol* **105**(2):103–11.
22. **Moreno E, Guzmán-Verri C, Gonzalez-Barrios R, Hernandez G, Morales J, Barquero-Calvo E, Chaves-Olarte E** (2012). *Brucella ceti* and Brucellosis in Cetaceans. *Front Cell Infect Microbiol* **2**:1–22.
23. **Hernández-Mora G, Palacios-Alfaro JD, González-Barrientos R** (2013). Wildlife reservoirs of brucellosis: *Brucella* in aquatic environments. *Rev Sci Tech* **32**(1):89–103.
24. **Whatmore AM, Dawson CE, Muchowski J, Perrett LL, Stubberfield EJ, Koylass M, Foster G, Davison NJ, Quance C, Sidor IF, Field CL, St. Leger J** (2017). Characterisation of North American *Brucella* isolates from marine mammals. *PLoS One* **12**(9):1-17.
25. **Davison NJ, Dagleish MP, Doeschate MT, Muchowski J, Perrett LL, Rocchi M, Whatmore AM, Brownlow A** (2021). Meningoencephalitis in a common minke whale *Balaenoptera acutorostrata* associated with *Brucella pinnipedialis* and gamma-herpesvirus infection. *Dis Aquat Organ* **144**:231–5.
26. **Audic S, Lescot M, Claverie J-M, Cloeckaert A, Zygmunt MS** (2011). The genome sequence of *Brucella pinnipedialis* B2/94 sheds light on the evolutionary history of the genus *Brucella*. *BMC Evol Biol* **11**(1):1–10.
27. **Wattam AR, Williams KP, Snyder EE, Almeida NF, Shukla M, Dickerman AW, Crasta OR, Kenyon R, Lu J, Shallom JM, Yoo H, Ficht TA, Tsolis R. M. R,M, Munk C, Tapia R, Han CS, Detter JC, Bruce DC, Brettin TS, Sobral BW, Boyle SM, Setubal JC** (2009). Analysis of Ten *Brucella* Genomes Reveals Evidence for Horizontal Gene Transfer Despite a Preferred Intracellular Lifestyle. *J Bacteriol* **191**(11):3569–79.
28. **Nymo IH, Arias MA, Pardo J, Álvarez MP, Alcaraz A, Godfroid J, Jiménez de Bagüés, Maria Pilar** (2016). Marine Mammal *Brucella* Reference Strains Are Attenuated in a BALB/c Mouse Model. *PLoS One* **11**(3):1-19.
29. **Nymo IH, das Neves CG, Tryland M, Bårdsen B-J, Santos RL, Turchetti AP, Janczak AM, Djønne B, Lie E, Berg V, Godfroid J** (2014). *Brucella pinnipedialis* hooded seal (*Cystophora cristata*) strain in the mouse model with concurrent exposure to PCB 153. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **37**(3):195–204.
30. **De BK, Stauffer L, Koylass MS, Sharp SE, Gee JE, Hesel LO, Steigerwalt AG, Vega R, Clark TA, Daneshvar MI, Wilkins PP, Whatmore AM** (2008). Novel *Brucella* strain (BO1) associated with a prosthetic breast implant infection. *J Clin Microbiol* **46**(1):43–9.
31. **Scholz HC, Nöckler K, Göllner C, Bahn P, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Kämpfer P, Cloeckaert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Pfeffer M, Huber B, Busse H-J, De BK** (2010). *Brucella inopinata* sp. nov., isolated from a breast implant infection. *Int J Syst Evol Microbiol* **60**(4):801–8.
32. **Wattam AR, Inzana TJ, Williams KP, Mane SP, Shukla M, Almeida NF, Dickerman AW, Mason S, Moriyón I, O’Callaghan D, Whatmore AM, Sobral BW, Tiller RV, Hoffmaster AR, Frace MA, Castro C de, Molinaro A, Boyle SM, De BK, Setubal JC** (2012). Comparative genomics of early-diverging *Brucella* strains reveals a novel lipopolysaccharide biosynthesis pathway. *mBio* **3**(5):1-11.
33. **Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Iturralde M, Arias MA, Pardo J, Cloeckaert A, Zygmunt MS** (2014). The New Strains *Brucella inopinata* BO1 and *Brucella* Species 83–210 Behave Biologically Like Classic Infectious *Brucella* Species and Cause Death in Murine Models of Infection. *J Infect Dis* **210**(3):467–72.
34. **Europäische Kommission** (2019). Richtlinie (EU) 2019/1833 der Kommission vom 24. Oktober 2019 zur Änderung der Anhänge I, III, V und VI der Richtlinie 2000/54/EG des Europäischen Parlaments und des Rates hinsichtlich rein technischer Anpassungen <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32019L1833>. Besucht am 06.09.2022.

35. **Velasco J, Romero C, López-Goni I, Leiva J, Díaz R, Moriyón I** (1998). Evaluation of the relatedness of *Brucella* spp. and *Ochrobactrum anthropi* and description of *Ochrobactrum intermedium* sp. nov., a new species with a closer relationship to *Brucella* spp. *Int J Syst Evol Microbiol* **48**(3):759–68.
36. **Teyssier C, Marchandin H, Jean-Pierre H, Diego I, Darbas H, Jeannot J-L, Gouby A, Jumas-Bilak E** (2005). Molecular and phenotypic features for identification of the opportunistic pathogens *Ochrobactrum* spp. *J Med Microbiol* **54**(10):945–53.
37. **Chai L-j, Jiang X-w, Zhang F, Zheng B-w, Shu F-c, Wang Z-l, Cui Q-f, Dong H-p, Zhang Z-z, Hou D-j, She Y-h** (2015). Isolation and characterization of a crude oil degrading bacteria from formation water: comparative genomic analysis of environmental *Ochrobactrum intermedium* isolate versus clinical strains. *J Zhejiang Univ Sci B* **16**(10):865–74.
38. **Lafi FF, Intikhab A, Geurts R, Bisseling T, Bajic VB, Hirt H, Saad MM** (2017). Draft Genome Sequence of *Ochrobactrum intermedium* Strain SA148, a Plant Growth-Promoting Desert Rhizobacterium. *Genome Announc* **5**(9):1-2.
39. **Aujoulat F, Romano-Bertrand S, Masnou A, Marchandin H, Jumas-Bilak E** (2014). Niches, Population Structure and Genome Reduction in *Ochrobactrum intermedium*: Clues to Technology-Driven Emergence of Pathogens. *PLoS One* **9**(1):1-14.
40. **Yamamoto K, Tamura T, Okamura Y, Kabamoto A, Moriwaki S, Eto M** (2010). Isolation and Characterization of *Ochrobactrum intermedium* from Imported Cattle Serologically Diagnosed with Bovine Brucellosis. *Nippon Juishikai Zasshi* **63**(8):615–9.
41. **Kassab I, Sarsam N, Affas S, Ayas M, Baang JH** (2021). A Case of *Ochrobactrum intermedium* Bacteremia Secondary to Cholangitis With a Literature Review. *Cureus* **13**(4):1-6.
42. **Kulkarni GJ, Shetty S, Dharme MS, Shouche YS** (2014). Genome sequencing analysis reveals virulence-related gene content of *Ochrobactrum intermedium* strain 229E, a urease-positive strain isolated from the human gastric niche. *FEMS Microbiol Lett* **359**(1):12–5.
43. **Scholz HC, Hubalek Z, Sedláček I, Vergnaud G, Tomaso H, Al Dahouk S, Melzer F, Kämpfer P, Neubauer H, Cloeckaert A, Maquart M, Zygmunt MS, Whatmore AM, Falsen E, Bahn P, Göllner C, Pfeffer M, Huber B, Busse H-J, Nöckler K** (2008). *Brucella microti* sp. nov., isolated from the common vole *Microtus arvalis*. *Int J Syst Evol Microbiol* **58**(2):375–82.
44. **Scholz HC, Hubalek Z, Nesvadbova J, Tomaso H, Vergnaud G, Le Flèche P, Whatmore AM, Al Dahouk S, Krüger M, Lodri C, Pfeffer M** (2008). Isolation of *Brucella microti* from soil. *Emerg Infect Dis* **14**(8):1316–7.
45. **Scholz HC, Hofer E, Vergnaud G, Le Flèche P, Whatmore AM, Dahouk SA, Pfeffer M, Krüger M, Cloeckaert A, Tomaso H** (2008). Isolation of *Brucella microti* from Mandibular Lymph Nodes of Red Foxes, *Vulpes vulpes*, in Lower Austria. *Vector Borne Zoonotic Dis* **9**(2):153–6.
46. **Rónai Z, Kreizinger Z, Dán Á, Drees K, Foster JT, Bányai K, Marton S, Szeredi L, Jánosi S, Gyuranecz M** (2015). First isolation and characterization of *Brucella microti* from wild boar. *BMC Vet Res* **11**(1):1–6.
47. **Jaý M, Girault G, Perrot L, Taunay B, Vuilmet T, Rossignol F, Pitel P-H, Picard E, Ponsart C, Mick V** (2018). Phenotypic and Molecular Characterization of *Brucella microti*-Like Bacteria From a Domestic Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*). *Front Vet Sci* **5**:1–7.
48. **Audic S, Lescot M, Claverie J-M, Scholz HC** (2009). *Brucella microti*: the genome sequence of an emerging pathogen. *BMC Genomics* **10**(1):1–18.
49. **Hanna N, Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Ouahrani-Bettache S, El Yakhlifi Z, Köhler S, Occhialini A** (2011). The virB Operon Is Essential for Lethality of *Brucella microti* in the Balb/c Murine Model of Infection. *J Infect Dis* **203**(8):1129–35.
50. **Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Ouahrani-Bettache S, Quintana JF, Mitjana O, Hanna N, Bessoles S, Sanchez F, Scholz HC, Lafont V, Köhler S, Occhialini A** (2010). The New Species *Brucella microti* Replicates in Macrophages and Causes Death in Murine Models of Infection. *J Infect Dis* **202**(1):3–10.
51. **Wareth G, Böttcher D, Melzer F, Shehata AA, Roesler U, Neubauer H, Schoon H-A** (2015). Experimental infection of chicken embryos with recently described *Brucella microti*: Pathogenicity and pathological findings. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* **41**:28–34.

52. **Occhialini A, Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Saadeh B, Bastianelli D, Hanna N, Biase D de, Köhler S** (2012). The Glutamic Acid Decarboxylase System of the New Species *Brucella microti* Contributes to Its Acid Resistance and to Oral Infection of Mice. *J Infect Dis* **206**(9):1424–32.
53. **Whatmore AM, Davison N, Cloeckaert A, Al Dahouk S, Zygmunt MS, Brew SD, Perrett LL, Koylass MS, Vergnaud G, Quance C, Scholz HC, Dick EJ, Hubbard G, Schlabritz-Loutsevitch NE** (2014). *Brucella papionis* sp. nov., isolated from baboons (*Papio* spp.). *Int J Syst Evol Microbiol* **64**(Pt 12):4120–8.
54. **García-Méndez KB, Hielpos SM, Soler-Lloréns PF, Arce-Gorvel V, Hale C, Gorvel J-P, O’Callaghan D, Keriél A** (2019). Infection by *Brucella melitensis* or *Brucella papionis* modifies essential physiological functions of human trophoblasts. *Cell Microbiol* **21**(7):1–13.
55. **Hofer E, Revilla-Fernández S, Al Dahouk S, Riehm JM, Nöckler K, Zygmunt MS, Cloeckaert A, Tomaso H, Scholz HC** (2012). A potential novel *Brucella* species isolated from mandibular lymph nodes of red foxes in Austria. *Vet Microbiol* **155**(1):93–9.
56. **Scholz HC, Revilla-Fernández S, Dahouk SA, Hammerl JA, Zygmunt MS, Cloeckaert A, Koylass M, Whatmore AM, Blom J, Vergnaud G, Witte A, Aistleitner K, Hofer E** (2016). *Brucella vulpis* sp. nov., isolated from mandibular lymph nodes of red foxes (*Vulpes vulpes*). *Int J Syst Evol Microbiol* **66**(5):2090–8.
57. **Occhialini A, Hofreuter D, Ufermann C-M, Al Dahouk S, Köhler S** (2022). The Retrospective on Atypical *Brucella* Species Leads to Novel Definitions. *Microorganisms* **10**(4):1–29.
58. **Tiller RV, Gee JE, Lonsway DR, Gribble S, Bell SC, Jennison AV, Bates J, Coulter C, Hoffmaster AR, De BK** (2010). Identification of an unusual *Brucella* strain (BO2) from a lung biopsy in a 52 year-old patient with chronic destructive pneumonia. *BMC Microbiol* **10**(1):1–11.
59. **Al Dahouk S, Köhler S, Occhialini A, Jiménez de Bagüés, Maria Pilar, Hammerl JA, Eisenberg T, Vergnaud G, Cloeckaert A, Zygmunt MS, Whatmore AM, Melzer F, Drees KP, Foster JT, Wattam AR, Scholz HC** (2017). *Brucella* spp. of amphibians comprise genomically diverse motile strains competent for replication in macrophages and survival in mammalian hosts. *Sci Rep* **7**(1):1–17.
60. **Soler-Lloréns PF, Quance CR, Lawhon SD, Stuber TP, Edwards JF, Ficht TA, Robbe-Austerman S, O’Callaghan D, Keriél A** (2016). A *Brucella* spp. Isolate from a Pac-Man Frog (*Ceratophrys ornata*) Reveals Characteristics Departing from Classical *Brucellae*. *Front Cell Infect Microbiol* **6**:1–16.
61. **Latheef S, Keyburn A, Broz I, Bagnara A, Bayley C, Frith S, Dobson EC** (2020). Atypical *Brucella* sp in captive Australian green tree frogs (*Litoria caerulea*): clinical features, pathology, culture and molecular characterization. *Aust Vet J* **98**(5):216–21.
62. **Eisenberg T, Hamann H-P, Kaim U, Schlez K, Seeger H, Schauerte N, Melzer F, Tomaso H, Scholz HC, Koylass MS, Whatmore AM, Zschöck M** (2012). Isolation of Potentially Novel *Brucella* spp. from Frogs. *Appl Environ Microbiol* **78**(10):3753–5.
63. **Rouzic N, Desmier L, Cariou M-E, Gay E, Foster JT, Williamson CHD, Schmitt F, Le Henaff M, Le Coz A, Lorléac’h A, Lavigne J-P, O’Callaghan D, Keriél A** (2021). First Case of Brucellosis Caused by an Amphibian-type *Brucella*. *Clin Infect Dis* **72**(9):e404-e407.
64. **Tiller RV, Gee JE, Frace MA, Taylor TK, Setubal JC, Hoffmaster AR, De BK** (2010). Characterization of Novel *Brucella* Strains Originating from Wild Native Rodent Species in North Queensland, Australia. *Appl Environ Microbiol* **76**(17):5837–45.
65. **Hammerl JA, Ulrich RG, Imholt C, Scholz HC, Jacob J, Kratzmann N, Nöckler K, Al Dahouk S** (2017). Molecular Survey on Brucellosis in Rodents and Shrews – Natural Reservoirs of Novel *Brucella* Species in Germany? *Transbound Emerg Dis* **64**(2):663–71.
66. **National Library of Medicine - Assembly Database** (2022). *Brucella* sp. 83/13 Genome (GenBank Number 186658) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCA_000157875.1. Besucht am 28.07.2022.
67. **Eisenberg T, Riße K, Schauerte N, Geiger C, Blom J, Scholz HC** (2017). Isolation of a novel 'atypical' *Brucella* strain from a bluespotted ribbontail ray (*Taeniura lymma*). *Antonie Van Leeuwenhoek* **110**(2):221–34.

68. **Eisenberg T, Schlez K, Fawzy A, Völker I, Hechinger S, Curić M, Schauerte N, Geiger C, Blom J, Scholz HC** (2020). Expanding the host range: infection of a reptilian host (*Furcifer pardalis*) by an atypical *Brucella* strain. *Antonie Van Leeuwenhoek* **113**(10):1531–7.