

**Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Escherichia coli ED1a und IA1
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Die kommensalen *Escherichia coli*-Stämme ED1a und IA1 wurden in den 2000er bzw. 1980er Jahren aus dem Stuhl gesunder Menschen in Frankreich isoliert.

Der *E. coli*-Stamm ED1a gehört der phylogenetischen Gruppe B2 an und wird dem Serotyp O81 zugeordnet. Die orale Aufnahme des Stamms ED1a führt beim Menschen und im Schwein nicht zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen [1, 2]. Wenn er Menschen als Probiotikum verabreicht wird, setzt sich der Stamm ED1a als dominanter *E. coli*-Stamm im Darm durch [1]. Im Mausmodell ist die intraperitoneale Injektion von bis zu 2×10^9 Zellen des ED1a-Stammes nicht tödlich [3, 4]. In Gewässern ist der Stamm nach 9 Tagen nicht mehr nachweisbar [3].

Der *E. coli*-Stamm IA1 gehört der phylogenetischen Gruppe B1 an und wird dem Serotyp O8 zugeordnet. Für diesen Stamm liegen ebenfalls Daten zur Pathogenität im Mausmodell vor. Die intraperitoneale Injektion von 2×10^9 Zellen des IA1-Stammes ist für Mäuse nicht tödlich [4]. Daten zur Überlebensfähigkeit in der Umwelt bzw. aus *in vivo*-Versuchen am Mensch liegen für den Stamm nicht vor.

Wie *E. coli* K12-abgeleitete Stämme sind ED1A und IA1 apathogen im Mausmodell [5]. Die Genomsequenzen beider Stämme liegen vor [ED1a - GenBank: CU928162.2 | IA1 - GenBank: CU928160.2] [6].

Die Einstufung von *E. coli* ED1A und IA1 in dieser Stellungnahme berücksichtigt sowohl die oben zusammengefassten *in vitro*- und *in vivo*-Daten zu ihrer Pathogenität als auch Informationen zu mehr als 100 typischen Virulenzfaktorgenen, die für Pili, Fimbrien und Adhäsine (25); Invasine (4); Toxine (19); Typ-III-Sekretionssystem (T3SS) (9) und Effektoren (21); Siderophore und andere Virulenzfaktoren (12) sowie Proteine, die an der Immunevasion beteiligt sind (12), kodieren. Die Gene wurden anhand von Literaturreviews zu Virulenzfaktoren pathogener *E. coli* Stämme ausgewählt und ihr Vorliegen im Genom der Stämme überprüft [7–9].

Im Genom beider Stämme fehlen die meisten Virulenzfaktorgene, die in intestinal pathogenen (IPEC) und extraintestinal pathogenen (ExPEC) *E. coli*-Stämmen vorkommen. Das Genom des Stamms ED1a enthält die auch als Virulenzfaktoren beschriebenen Gene, kodierend für Curli-Fimbrien (*csgBAC*-Operon), das Äußere-Membran-Protein A (*ompA*) und mehrere Siderophore (*iutA*, *ireA*, *iucA*, *iucB*, *iucC*, *iucD*, *fyuA*, *irp*). Dem Stamm IA1 fehlen hingegen Siderophorgene. Sein Genom enthält zusätzlich zum *csgBAC*-Operon und *ompA* jedoch das komplette *fim*-Operon für den Typ-I-Pilus. Das Äußere-Membran-Protein A spielt eine Rolle in der Immunevasion im Blut sowie der Adhäsion und Invasion der Bluthirnschranke in ExPEC [10]. Die Expression des Typ-I-Pilus und der Curli-Fimbrien ist ebenfalls charakteristisch für

ExPEC-Stämme, jedoch allein nicht ausreichend zur Induktion von Erkrankungen, da für die Ausprägung der Pathogenität weitere Virulenzfaktorgene z. B. für Kapselantigene, Antigen 43 und weitere Virulenzfaktoren fehlen.

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anlage 1 GenTSV werden *E. coli* ED1a und IA11 als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Bei *E. coli* ED1a und *E. coli* IA11 handelt es sich um Stämme, in deren Genom der Großteil der Gene bekannter Virulenzfaktoren fehlt. Das Genom beider Stämme enthält einzelne Virulenzfaktorgene, die für ExPEC charakteristisch sind. Das Vorliegen einzelner Gene per se ist jedoch nicht mit einer Pathogenität gleichzusetzen. Die Gene für Curli-Fimbrien und Typ-I-Pilus liegen auch im Genom apathogener, probiotischer *E. coli*-Stämme wie *E. coli* Nissle 1917, G5, G4/9 und G3/10 vor, die ebenfalls der **Risikogruppe 1** zugeordnet sind [11, 12]. Darüber hinaus liegen für beide Stämme Daten vor, die zeigen, dass diese Stämme apathogen sind. Daher besteht bei gentechnischen Arbeiten mit *E. coli* ED1a und IA11 als Spender- und Empfängerorganismen kein Risiko für Mensch und Umwelt.

Literatur

1. **Ghalayini M, Launay A, Bridier-Nahmias A, Clermont O, Denamur E, Lescat M, Tenaillon O** (2018). Evolution of a Dominant Natural Isolate of *Escherichia coli* in the Human Gut over the Course of a Year Suggests a Neutral Evolution with Reduced Effective Population Size. *Appl Environ Microbiol* **84**(6).
2. **Mourand G, Paboef F, Fleury MA, Jouy E, Bougeard S, Denamur E, Kempf I** (2016). *Escherichia coli* Probiotic Strain ED1a in Pigs Has a Limited Impact on the Gut Carriage of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *E. coli*. *Antimicrob Agents Chemother* **61**(1):e01293-16.
3. **Clermont O, Lescat M, O'Brien CL, Gordon DM, Tenaillon O, Denamur E** (2008). Evidence for a human-specific *Escherichia coli* clone. *Environ Microbiol* **10**(4):1000–6.
4. **Diard M, Baeriswyl S, Clermont O, Gouriou S, Picard B, Taddei F, Denamur E, Matic I** (2007). *Caenorhabditis elegans* as a simple model to study phenotypic and genetic virulence determinants of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*. *Microbes Infect* **9**(2):214–23.
5. **Chart H, Smith HR, La Ragione RM, Woodward MJ** (2000). An investigation into the pathogenic properties of *Escherichia coli* strains BLR, BL21, DH5 α and EQ1. *J Appl Microbiol* **89**(6):1048–58.
6. **Touchon M, Hoede C, Tenaillon O, Barbe V, Baeriswyl S, Bidet P, Bingen E, Bonacorsi S, Bouchier C, Bouvet O, Calteau A, Chiapello H, Clermont O, Cruveiller S, Danchin A, Diard M, Dossat C, Karoui ME, Frapy E, Garry L, Ghigo JM, Gilles AM, Johnson J, Le Bouguéne C, Lescat M, Mangenot S, Martinez-Jéhanne V, Matic I, Nassif X, Oztas S, Petit MA, Pichon C, Rouy Z, Ruf CS, Schneider D, Turret J, Vacherie B, Vallenet D, Médigue C, Rocha EPC, Denamur E** (2009). Organised Genome Dynamics in the *Escherichia coli* Species Results in Highly Diverse Adaptive Paths. *PLoS Genet* **5**(1):e1000344.
7. **Croxen MA, Finlay BB** (2010). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nat Rev Microbiol* **8**(1):26–38.
8. **Sarowska J, Futoma-Koloch B, Jama-Kmiecik A, Frej-Madrzak M, Ksiazczyk M, Bugla-Ploskonska G, Choroszy-Krol I** (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog* **11**(1):10.

9. **Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT** (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* **2**(2):123–40.
10. **Krishnan S, Prasadarao NV** (2012). Outer membrane protein A and OprF: versatile roles in Gram-negative bacterial infections. *FEBS J* **279**(6):919–31.
11. **Reister M, Hoffmeier K, Krezdorn N, Rotter B, Liang C, Rund S, Dandekar T, Sonnenborn U, Oelschlaeger TA** (2014). Complete genome sequence of the Gram-negative probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *J Biotechnol* **187**:106–7.
12. **Wassenaar TM, Zschüttig A, Beimfohr C, Geske T, Auerbach C, Cook H, Zimmermann K, Gunzer F** (2015). Virulence genes in a probiotic *E. coli* product with a recorded long history of safe use. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* **5**(1):81–93.