



**Stellungnahme der ZKBS**  
**zur Risikobewertung von *Escherichia coli* G1/2, G3/10, G4/9, G5, G6/7 und G8**  
**als Spender- oder Empfängerorganismen bei gentechnischen Arbeiten**  
**gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

**Allgemeines**

Das probiotische Präparat Symbioflor 2 ist zur Behandlung gastrointestinaler Störungen und zur Stärkung des Immunsystems zugelassen [1]. Es enthält Autolysat und lebende Zellen der Wildtyp-Stämme G1/2, G3/10, G4/9, G5, G6/7 und G8 von *Escherichia coli*.

Die Genomsequenzen aller Stämme liegen vor. Sequenzanalysen zeigten, dass keine genetischen Informationen für Virulenzfaktoren wie Shiga-Toxine (*stx*), Intimin (*eaeA*) oder Pyelonephritis-assoziierte Pili (*pap*) enthalten sind. Das Genom der Stämme G1/2, G6/7 und G8 enthält dagegen ein Hämolyysin-Operon (*hlyCABD*) des Enterohämolyisintyps. Diese Stämme zeigen auf Blutagar mit defibrinierten, gewaschenen Schafserythrozyten eine schwache Hämolyysinaktivität, die nicht auf anderen Blutagarplatten ermittelt werden kann. Diese vergleichsweise geringe Hämolyysinaktivität ist wahrscheinlich auf Mutationen im Promotorbereich des Hämolyysinoperons zurückzuführen.

Weiterhin sind im Genom der Stämme Leserahmen für virulenzassoziierte Gene enthalten, die für Typ-1-, Typ-3- und Curl-Fimbrien, Flagellen, Siderophore und ein Typ-IV-Sekretionssystem kodieren. Nur die Stämme G8 (O169:H<sup>-</sup>) und G3/10 (O35, 129:H<sup>-</sup>:K<sup>-</sup>) sind serotypisierbar.

Um die Wirksamkeit von Symbioflor 2 zu bewerten, wurden klinische Studien durchgeführt, im Rahmen derer gesunden Freiwilligen über mehrere Wochen hinweg Mischungen lebender Bakterien der o. g. Stämme verabreicht wurden. In der ersten Studie hatten zehn Personen 14 Tage lang täglich  $10^8$  colony forming units (CFU) geschluckt [2]. In einer zweiten Studie war 23 Personen 14 Tage lang täglich oral Bakterienlysate verabreicht worden, das vor einer einstündigen Inaktivierung bei 65 °C  $1 - 4,5 \times 10^7$  CFU ml<sup>-1</sup> enthalten hatte [3]. Im Rahmen einer dritten Studie nahmen 203 Kinder im Alter von 4 bis 18 Jahren täglich 10 bis 30 Tropfen des Präparats (Autolysat und lebende Zellen von  $10^7$  CFU ml<sup>-1</sup>) ein [4]. In keiner der Studien wurden durch die Einnahme der Bakterien verursachte Nebenwirkungen beobachtet.

**Empfehlung**

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden *Escherichia coli* G1/2, G3/10, G4/9, G5, G6/7 und G8 als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

**Begründung**

Bei *Escherichia coli* G1/2, G3/10, G4/9, G5, G6/7 und G8 handelt es sich um Stämme, die seit Jahrzehnten als probiotisches Präparat vertrieben werden. Die Apathogenität der Stämme ist gut belegt, da auch die wiederholte orale Einnahme großer Mengen der Bakterien über einen längeren Zeitraum nicht zu einer Erkrankung der Versuchspersonen führte [2; 3; 4].

Das Vorliegen des Hämolyisin-Operons und von virulenzassoziierten Genen (Fimbrien- oder Flagellengene) lässt keinen Rückschluss auf eine Pathogenität von *E. coli* zu. Hämolysingene können auch im Genom von Isolaten aus gesunden Menschen oder Schweinen identifiziert werden [5; 6]. Daher besteht bei gentechnischen Arbeiten mit *Escherichia coli* G1/2, G3/10, G4/9, G5, G6/7 und G8 als Empfängerorganismen kein Risiko für Mensch und Umwelt, sofern sich das Risikopotential nicht durch eingebrachte Nukleinsäuren erhöht.

## Literatur

- [1] Rote Liste 2010, S. 1267, Produktkennziffer 60055
- [2] Enck P, Zimmermann K, Menke G, Klosterhalfen S (2009). Randomized controlled treatment trial of irritable bowel syndrome with a probiotic *E. coli* preparation (DSM17252) compared to placebo. *Z Gastroenterol* 47(2): 209-14
- [3] Möndel M, Schroeder BO, Zimmermann K, Huber H, Nuding S, Beisner J, Fellermann K, Stange EF, Wehkamp J (2009). Probiotic *E. coli* treatment mediates antimicrobial human  $\beta$ -defensin synthesis and fecal excretion in humans. *Mucosal Immunol.* 2(2): 166-72
- [4] Martens U, Enck P, Zieseniß E (2010). Probiotic treatment of irritable bowel syndrome in children. *GMS Ger Med Sci.* 8: Doc07
- [5] Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, Strånnegård IL, Åberg N, Wold AE, Adlerberth IG (2003). *Escherichia coli* in infant's intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence gene carriage. *Ped Res.* 54(1): 8-14
- [6] Schierack P, Steinrück H, Kleta S, Vahjen, W (2006). Virulence factor gene profiles of *Escherichia coli* isolates from clinically healthy pigs. *Appl Env Microbiol.* 72(10): 6680-6