

**Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von
Listeria grayi, *Listeria marthii*, *Listeria rocourtiae* und *Listeria welshimeri*
als Spender- oder Empfängerorganismen
für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Listerien sind Gram-positive, fakultativ anaerobe Bakterien, die in der Natur ubiquitär verbreitet sind und sich in einem weiten Temperaturbereich vermehren können. Während zwei Vertreter, *Listeria monocytogenes* und *Listeria ivanovii*, als Erreger von Listeriosen bekannt sind, gelten die anderen Vertreter der Familie der *Listeriaceae* als apathogen.

Pathogene>Listerien können in Wirtszellen eindringen, sich vermehren und sich von Zelle zu Zelle fortbewegen, wobei ihre Fortbewegung wegen der Manipulation des Wirts-Cytoskeletts „Kometen-artig“ erscheint. Die Pathogenität wird durch Internalingene und die sog. *Listeria pathogenicity island 1* (LIPI-1) vermittelt. Dieses Cluster war wahrscheinlich schon im Genom eines Urahns der heutigen>Listerien vorhanden und ging im Laufe der Evolution in *L. grayi*, *L. welshimeri* und *L. marthii* ganz verloren, während die Genome von *L. seeligeri* und einiger Stämme von *L. innocua* das vollständige Cluster enthalten [1; 2]. Dennoch sind diese Stämme apathogen.

Die ZKBS hat in ihrer Stellungnahme zur Einstufung von *Listeria monocytogenes*-Stämmen mit Deletionen in den Genen *prfA*, *hly*, *actA*, *actA* und *plcB* von November 1999 (Az. 6790-10-67) bestimmte Stämmen mit Deletionen in einzelnen Genen der LIPI-1 in die Risikogruppe 1 eingestuft, da experimentell gezeigt worden war, dass diese Stämme apathogen sind.

***Listeria grayi* (Az. 6790-05-01-106)**

L. grayi ist evolutionär am weitesten von den anderen Gruppen der *Listeriaceae* entfernt [1]. Im Gegensatz zu *L. monocytogenes* und *L. ivanovii* ist *L. grayi* nicht-cytotoxisch für Menschen-, Ratten-, Hamster- und Affenzelllinien und nicht-hämolytisch für Schafs-Erythrocyten [3]. In den letzten Jahren wurden mehrere Infektionen bei Immunsupprimierten (Empfängern von Transplantaten) beschrieben [4; 5]. Infektionen von Immunkompetenten sind nicht bekannt.

***Listeria marthii* (Az. 6790-05-01-107)**

Isolate von *L. marthii* wurden aus dem Boden und aus Gewässern im Nordosten der USA isoliert [6]. Die Analyse der Sequenz des 16S rRNA-Gens und der Gene *sigB* (alternativer Sigmafaktor), *gap* (Glyceraldehyd-3-Phosphatdehydrogenase) und *prs* (Phosphoribosylpyrophosphatsynthase) sowie DNA-DNA-Hybridisierungsexperimente zeigten, dass es sich bei *L. marthii* um eine eigene Art handelt. *L. marthii* besitzt keine Homologe zu Genen der LIPI-1 und zum Internalingen *inlA* und ist nicht-hämolytisch. Darüber hinaus wurde in Zellkulturexperimenten gezeigt, dass *L. marthii* nicht in Zellen eindringen kann.

***Listeria rocourtiae* (Az. 6790-05-01-108)**

L. rocourtiae wurde aus einer österreichischen Salatfertigmischung isoliert [7]. Die Analyse der 16S rRNA und eines *microarrays* zeigte, dass das Isolat eine neue Spezies der Gattung *Listeria* darstellt. Mithilfe von Zellkulturexperimenten und durch die Injektion von *L. rocourtiae* in Mäuse wurde gezeigt, dass *L. rocourtiae* apathogen ist.

***Listeria welshimeri* (Az. 6790-05-01-109)**

L. welshimeri wurde von verrottendem pflanzlichem Material isoliert [8]. Das Genom von *L. welshimeri* enthält keine Homologe zu den Genen der LIPI-1 [9]. Bei Infektionsversuchen zeigte sich, dass *L. welshimeri* sich selbst nach Injektion von mehr als 1×10^8 colony forming units nicht in Mäusen vermehren konnte. Dies entspricht einer etwa 100 000fach höheren LD₅₀ als bei Infektionen mit *L. monocytogenes* [10; zitiert in 11].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i.V.m. den Kriterien im Anhang I GenTSV werden *Listeria grayi*, *Listeria marthii*, *Listeria rocourtiae* und *Listeria welshimeri* als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Bei *L. grayi*, *L. marthii*, *L. rocourtiae* und *L. welshimeri* handelt es sich um Arten, für die kein pathogenes Potential nachgewiesen wurde. Es sind keine Erkrankungen von immunkompetenten Menschen, Tieren oder Pflanzen bekannt, die von *L. grayi*, *L. marthii*, *L. rocourtiae* oder *L. welshimeri* ausgelöst würden.

Literatur

- [1] Schmid MW, Ng EY, Lampidis R, Emmerth M, Walcher M, Kreft J, Goebel W, Wagner M, Schleifer KH (2005). Evolutionary history of the genus *Listeria*. Syst Appl Microbiol. 28: 1-18.
- [2] Johnson J, Jinneman K, Stelma G, Smith BG, Lye D, Messer J, Ulaszek J, Evsen L, Gendel S, Bennett RW, Swaminathan B, Pruckler J, Steigerwalt A, Kathariou S, Yildirim S, Volokhov D, Rasooly A, Chizhikov V, Wiedmann M, Fortes E, Duvall RE, Hitchins AD (2004). Natural atypical *Listeria innocua* strains with *Listeria monocytogenes* pathogenicity island 1 genes. Appl Env Microbiol. 70: 4256-66.
- [3] Farber JM, Speirs JI (1987). Use of continuous cell lines to distinguish between pathogenic and nonpathogenic *Listeria* spp.. J Clin Microbiol. 25(8): 1463-6.
- [4] Rapose A, Lick SD, Ismail N (2008). *Listeria grayi* bacteremia in a heart transplant recipient. Transpl Infect Dis. 10: 434-6.
- [5] Salimnia H, Patel D, Lephart PR, Fairfax MR, Chandrasekar PH (2010). *Listeria grayi*: vancomycin-resistant, gram-positive rod causing bacteremia in a stem cell transplant recipient. Transpl Infect Dis. 12: 526-8.
- [6] Graves LM, Hesel LO, Steigerwalt AG, Morey RE, Daneshwar MI, Roof SE, Orsi RH, Fortes ED, Mililo SR, den Bakker HC, Wiedmann M, Swaminathan B, Sauders BD (2010). *Listeria marthii* sp. nov., isolated from the natural environment, Finger Lakes National Forest. Int J Syst Evol Microbiol. 60 (6): 1280-8.
- [7] Leclercq A, Clermont D, Bizet C, Grimont PA, Le Flèche-Matéos A, Roche SM, Buchrieser C, Cadet-Daniel V, Le Monnier A, Lecuit M, Allerberger F (2010). *Listeria rocourtiae* sp. nov.. Int J Syst Evol Microbiol. 60(9): 2210-4.
- [8] Welshimer HJ (1968). Isolation of *Listeria monocytogenes* from vegetation. J Bacteriol. 95: 300-3.
- [9] Chakraborty T, Hain T, Domann E (2000). Genome organization and the evolution of the virulence gene locus in *Listeria* species. Int J Med Microbiol. 290(2): 167-74.
- [10] Kluge R, Hof H (1986). Virulence of *Listeria welshimeri*. Zentbl Bakteriol Mikrobiol Hyg. 262: 403-11.
- [11] Hain T, Steinweg C, Kuenne CT, Billion A, Ghai R, Chatterjee SS, Domann E, Kärst U, Goesmann A, Bekel T, Bartels D, Kaiser O, Meyer F, Pühler A, Weisshaar B, Wehland J, Liang C, Dandekar T, Lampidis R, Kreft J, Goebel W, Chakraborty T (2006). Whole-genome sequence of *Listeria*

welshimeri reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. J Bacteriol. 188(21): 7405-15.