

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Mycobacterium tuberculosis H37Ra
als Spender- oder Empfängerorganismus gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Mycobacterium tuberculosis H37Ra leitet sich von dem klinischen Isolat *M. tuberculosis* H37 ab, das aus einem Patienten mit chronischer Lungentuberkulose isoliert wurde. Um avirulente Mutanten von H37 zu erhalten, wurde der Stamm drei bis vier Monate auf Ei-Festmedium inkubiert. Nach dieser Zeit wurden Kolonien mit untypischer Morphologie ausgewählt und die Pathogenität der Mutanten für Meerschweinchen überprüft. Der somit erzeugte Stamm *M. tuberculosis* H37Ra erwies sich als apathogen [1]. Dieser und der eng verwandte, aber noch virulente Stamm *M. tuberculosis* H37Rv werden bis heute als avirulente bzw. virulente Referenzstämme von *M. tuberculosis* in der Forschung verwendet und detailliert untersucht, um die Grundlage der Attenuierung von *M. tuberculosis* H37Ra aufzudecken.

M. tuberculosis H37Ra zeigt einige morphologische Unterschiede zu *M. tuberculosis* H37Rv: Kolonien von *M. tuberculosis* H37Ra bilden höhere Kolonien, jedoch keine Zopf-artigen Strukturen und können nicht mit Neutralrot angefärbt werden. Darüber hinaus ist der Stamm unter anaeroben Wachstumsbedingungen bzw. innerhalb von Makrophagen weniger überlebensfähig. Zur Infektion von Makrophagen ist er zwar in der Lage, vermehrt sich jedoch intrazellulär deutlich schlechter als *M. tuberculosis* H37Rv [2] und kann Phagosomenmembranen weniger gut zerstören [3; 4]. Im Lungengewebe von Mäusen vermehrt sich *M. tuberculosis* H37Ra langsamer als *M. tuberculosis* H37Rv und die Zahl der Bakterien in der Lunge geht im Gegensatz zu *M. tuberculosis* H37Rv innerhalb von 15 Tagen nach der Infektion zurück. Die Infektion mit *M. tuberculosis* H37Ra ruft darüber hinaus eine geringere Entzündungsreaktion in der Lunge der infizierten Mäuse hervor und führt zur Bildung von sehr wenigen Granulomen [5; 6].

Der unterschiedlichen Pathogenität von *M. tuberculosis* H37Ra und -Rv liegen verschiedene Mutationen im Genom zugrunde. Die Sequenz des Gesamtgenoms von *M. tuberculosis* H37Ra wurde mit der des Gesamtgenoms von *M. tuberculosis* H37Rv verglichen [7]. Im Genom von *M. tuberculosis* H37Ra wurden dabei insgesamt 130 Insertionen, Deletionen und Punktmutationen identifiziert, die spezifisch für das Genom von *M. tuberculosis* H37Ra sind. Insgesamt 57 Gene bzw. ihre Promotoren sind von den Mutationen betroffen. Bei diesen Genen handelt es sich um Gene, die für Transkriptionsfaktoren, globale Regulatoren wie SigC oder Regulatoren der stringenten Kontrolle, für Membran- oder sekretierte Proteine kodieren sowie um Stoffwechsel- und Wachstumsgene [7].

Von der *American Type Culture Collection* und in Belgien wird *M. tuberculosis* H37Ra in die Risikogruppe 2 eingestuft [8; 9].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

Begründung

Bei *M. tuberculosis* H37Ra handelt es sich um einen gut charakterisierten Stamm, dessen Pathogenität im Vergleich zum eng verwandten, virulenten Stamm *M. tuberculosis* H37Rv und

anderen Isolaten von *M. tuberculosis* der Risikogruppe 3 deutlich reduziert ist und als gering eingestuft wird.

Literatur

1. **Steenken W** (1935). Lysis of tubercle bacilli in vitro. *Proc Soc Exptl Biol Med.* **33**(2):253-5.
2. **McDonough KA, Kress Y, Bloom BR** (1993). Pathogenesis of tuberculosis: interaction of *Mycobacterium tuberculosis* with macrophages. *Infect Immun.* **61**(7):2763-73.
3. **Larson CL, Wicht WC** (1964). Infection of mice with *Mycobacterium tuberculosis*, strain H37Ra. *Am Rev Respir Dis.* **90**:742-8.
4. **Pierce CH, Dubos RJ, Schaefer WB** (1953). Multiplication and survival of tubercle bacilli in the organs of mice. *J Exptl Med.* **97**(2):189-206.
5. **Beisiegel M, Kursar M, Koch M, Loddenkemper C, Kuhlmann S, Zedler U, Staber M, Hurwitz R, Kaufmann SH** (2009). Combination of host susceptibility and virulence of *Mycobacterium tuberculosis* determines dual role of nitric oxide in the protection and control of inflammation. *J Infect Dis.* **199**(8):1222-32.
6. **Kim WS, Kim JS, Cha SB, Han SJ, Kim H, Kwon KW, Kim SJ, Eum SY, Cho SN, Shin SJ** (2015). Virulence-Dependent Alterations in the Kinetics of Immune Cells during Pulmonary Infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *PloS one.* **10**(12):e0145234.
7. **Zheng H, Lu L, Wang B, Pu S, Zhang X, Zhu G, Shi W, Zhang L, Wang H, Wang S, Zhao G, Zhang Y** (2008). Genetic basis of virulence attenuation revealed by comparative genomic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Ra versus H37Rv. *PloS one.* **3**(6):e2375.
8. **ATCC** (2016). http://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/25177.aspx?geo_country=de#history. 8-1-2016.
9. **Herman P, Fauville-Dufaux M, Breyer D, van Vaerenbergh B, Pauwels K, Dai Do Thi C, Sneyers M, Wanlin M, Snacken R, Moens W** (2006). Biosafety recommendations for the contained use of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates in industrialized countries. http://www.biosafety.be/CU/PDF/Mtub_Final_DL.pdf. 16-12-2015.