

Stellungnahme der ZKBS zur Risikobewertung von *Streptococcus salivarius* als Spender- oder Empfängerorganismus gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Streptococcus salivarius ist ein Kommensale der menschlichen Mundflora innerhalb der Ordnung der Milchsäurebakterien [1]. Die Vertreter der Spezies sind Gram-positive, unbewegliche, Katalase-negative, nicht-sporenbildende und fakultativ anaerobe Kokken. Sie sind mesophil und vermehren sich optimal bei 37 °C [2]. Die Bakterien zählen zu den α -hämolisierenden Viridans-Streptokokken [3]. Vereinzelt wurden auch β -hämolisierende Stämme beobachtet [2].

S. salivarius gehört zu den Erstbesiedlern der Mundschleimhaut und ist eine der dominierenden Arten des Biofilms auf der Oberseite der Zunge [4, 5]. Neben dem Mundraum kann *S. salivarius* auch die oberen Atemwege und den Darm, insbesondere den Dünndarm, besiedeln [6, 7]. Des Weiteren wurden Isolate auf der Haut, in der Muttermilch, im Urogenitaltrakt und im Zusammenhang mit *S. salivarius*-Infektionen im Blut, in der Leber und im Gehirn nachgewiesen [7–9]. *S. salivarius* kommt hauptsächlich beim Menschen vor [7]. Es existieren nur wenige nicht-humane Isolate, wie z. B. aus der Mundhöhle von Schimpansen [10]. Zudem wurde das Bakterium in Kuhmilch und traditionell fermentierten Milchprodukten nachgewiesen [11–13].

S. salivarius ist fakultativ pathogen. Meist löst das Bakterium endogene oder nosokomiale Infektionen aus. Insbesondere bei immunsupprimierten Personen tritt es als Krankheitserreger in Erscheinung. Bei Abwehrgesunden kann *S. salivarius* Erkrankungen im Zusammenhang mit ärztlichen Eingriffen, wie z. B. nach Wirbelsäuleneingriffen [16], Zahnbehandlungen [17] oder Hornhauttransplantationen [18], auslösen. Zu den am häufigsten hervorgerufenen Krankheiten zählen Meningitis, Bakteriämie und Endokarditis [7, 14, 15]. In Kühen wurde *S. salivarius* mit Mastitis in Verbindung gebracht [16].

Die Übertragung erfolgt über Tröpfcheninfektionen oder im Umfeld ärztlicher Maßnahmen [7].

Im Vergleich zu anderen Streptokokken kodiert *S. salivarius* für eine hohe Anzahl an extrazellulären Proteinen, Glykosyltransferasen und *response*-Regulatoren. Dabei handelt es sich um Proteine mit wichtigen physiologischen und ökologischen Funktionen, wie z. B. der Adhäsion an Oberflächen und der Interaktionen zwischen Wirt und Kommensale. Gene für spezifische Pathogenitätsfaktoren wurden bisher nicht im Genom von *S. salivarius* identifiziert [7]. In mehreren *S. salivarius*-Genomen wurden Gene für Antibiotikaresistenzen, vor allem gegen Erythromycin und Penicillin, sowie gegen Tetracycline und weitere Makrolide identifiziert [17–19]. Da einige dieser Isolate auch Träger von mobilen genetischen Elementen sind, deutet dies auf eine potentielle Übertragbarkeit der Resistenzgene durch horizontalen Gentransfer hin [19]. Viele *S. salivarius*-Stämme kodieren auf großen extrachromosomalen

DNA-Molekülen, sogenannten Megaplasmiden, Bacteriocine. Es handelt sich dabei um antibiotisch wirkende Proteine, die gegen artähnliche Bakterien gerichtet sind [20, 21]. Die Expression von Bacteriocinen gilt als probiotisches Merkmal, da diese Substanzen das Wachstum pathogener Bakterien hemmen und die natürliche Mikroflora stabilisieren können [21].

Zurzeit werden zwei Bacteriocin-produzierende Stämme, *S. salivarius* K12 und M18, als Nahrungsergänzungsmittel gewerblich vertrieben. *S. salivarius* K12 soll wiederkehrender, Streptokokken-induzierter Pharyngitis bei Erwachsenen und Kindern vorbeugen können [22, 23]. Zudem gibt es Hinweise darauf, dass *S. salivarius* K12 Mundgeruch und Inzidenzen von Mittelohrentzündungen reduziert [24, 25] sowie gegen invasive *Candida albicans*-Infektionen schützt [26]. *S. salivarius* M18 konnte Zahnbeläge und die Konzentration von *Streptococcus mutans* bei Kindern verringern [27]. Für *S. salivarius* K12 und M18 existieren keine Hinweise auf eine Pathogenität [28, 29]. Beide Stämme haben sich in den letzten Jahren als unbedenklich für den menschlichen Verzehr erwiesen [25, 30].

Zwei weitere *S. salivarius*-Stämme, 24SMB und DB-B5, wurden in klinischen Studien auf ihre Eignung als Probiotika hin untersucht. In zuvor durchgeführten Sicherheitsanalysen konnten in *S. salivarius* 24SMB keine Virulenz- oder Antibiotikaresistenzgene nachgewiesen werden [31]. Die Verabreichung von *S. salivarius* 24SMB in Kombination mit dem Stamm *Streptococcus oralis* 89a trug zur Behandlung von Mittelohrentzündungen sowie Infektionen der oberen Atemwege bei und führte zu einer Reduktion vergrößerter Rachenmandeln (adenoide Hypertrophie) [32–34]. *S. salivarius* DB-B5, ursprünglich isoliert aus dem Zahnstein einer gesunden Person [35], soll zum Gleichgewicht einer gesunden Mundflora beitragen und so einer Dysbiose entgegenwirken. Der Stamm wurde kürzlich näher charakterisiert sowie auf seine Sicherheit überprüft [36]. Die Analyse des Genoms bestätigte seine taxonomische Identität und es konnten weder potenzielle Virulenzfaktoren noch Antibiotikaresistenzgene identifiziert werden. Zudem zeigte sich *S. salivarius* DB-B5 als suszeptibel gegenüber klinisch relevanten Antibiotika. Innerhalb einer klinischen Studie erwies sich die Einnahme von 1×10^9 koloniebildenden Einheiten (KBE) von *S. salivarius* DB-B5 pro Tag über einen Zeitraum von vier Wochen als sicher und verträglich [36].

In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 466 „Einstufung von Prokaryoten (Bacteria und Archaea)“ wird *S. salivarius* der Risikogruppe 2 mit der Kennzeichnung „TA“¹ zugeordnet [37]. In einem Begründungspapier zur Einstufung von *Streptococcus salivarius* des Ausschusses für biologische Arbeitsstoffe (ABAS) vom Dezember 2017 wurde darauf hingewiesen, dass sich die Kennzeichnung „TA“ auf die *S. salivarius*-Stämme K12 und M18 bezieht [38].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien in Anlage 1 GenTSV werden die *Streptococcus salivarius*-Stämme K12, M18, 24SMB und DB-B5 als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet. Alle übrigen *Streptococcus salivarius*-Stämme und –Isolate werden als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet.

¹ TA: „Arten, von denen Stämme bekannt sind, die langjährig sicher in der technischen Anwendung gehandhabt wurden. Diese bewährten Stämme können daher nach den Einstufungskriterien in die Risikogruppe 1 fallen. Die Kennzeichnung mit „TA“ erhebt allerdings keinen Anspruch auf Vollständigkeit. In Spezies ohne diese Kennzeichnung können deshalb ggf. auch Stämme mit den Merkmalen „TA“ vorkommen.“

Begründung

Streptococcus salivarius ist ubiquitär verbreitet und kommt natürlicherweise hauptsächlich im Mundraum des Menschen vor. Die *S. salivarius*-Stämme K12, M18, 24SMB und DB-B5 sind gut charakterisiert und es gibt keine Hinweise auf ein Gefährdungspotential für Mensch, Tier und Umwelt. Für andere *S. salivarius*-Stämme kann ein geringes Gefährdungspotential für Mensch und Tier nicht ausgeschlossen werden.

Literatur

1. **Sherman JM, Niven CF, Smiley KL** (1943). *Streptococcus salivarius* and Other Non-hemolytic Streptococci of the Human Throat. *J Bacteriol* **45**(3):249–63.
2. **Whiley RA, Hardie JM** (2020). *Streptococcus*. In Christensen H, Trujillo ME, Dedysh S, DeVos P, Hedlund B, Kämpfer P, Rainey FA, Whitman WB (Hrsg.), *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, vol. 708, S. 1–86. Wiley, Hoboken, NJ.
3. **Facklam R** (2002). What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev* **15**(4):613–30.
4. **Pearce C, Bowden GH, Evans M, Fitzsimmons SP, Johnson J, Sheridan MJ, Wientzen R, Cole MF** (1995). Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J Med Microbiol* **42**(1):67–72.
5. **Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, Paster BJ** (2003). Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol* **41**(2):558–63.
6. **Jörissen J, van den Broek MFL, Boeck I de, van Beeck W, Wittouck S, Boudewyns A, van de Heyning P, Topsakal V, van Rompaey V, Wouters I, van Heirstraeten L, van Damme P, Malhotra-Kumar S, Theeten H, Vanderveken OM, Lebeer S** (2021). Case-Control Microbiome Study of Chronic Otitis Media with Effusion in Children Points at *Streptococcus salivarius* as a Pathobiont-Inhibiting Species. *mSystems* **6**(2):e00056-21.
7. **Delorme C, Abraham A-L, Renault P, Guédon E** (2015). Genomics of *Streptococcus salivarius*, a major human commensal. *Infect Genet Evol* **33**:381–92.
8. **Mandapat AL, Eddleman CS, Bissonnette ML, Batjer HH, Zembower TR** (2011). Idiopathic pontine *Streptococcus salivarius* abscess in an immunocompetent patient: management lessons through case illustration and literature review. *Scand J Infect Dis* **43**(11-12):837–47.
9. **Ruiz-Tovar J, Gamallo C** (2012). *Streptococcus salivarius* causing multiple liver abscesses in a patient with situs inversus. *Surg Infect (Larchmt)* **13**(2):130–1.
10. **Miyanochara M, Imai S, Okamoto M, Saito W, Nomura Y, Momoi Y, Tomonaga M, Hanada N** (2013). Distribution of *Streptococcus troglodytae* and *Streptococcus dentirosetti* in chimpanzee oral cavities. *Microbiol Immunol* **57**(5):359–65.
11. **Ongol MP, Asano K** (2009). Main microorganisms involved in the fermentation of Ugandan ghee. *Int J Food Microbiol* **133**(3):286–91.
12. **van Hoorde K, Verstraete T, Vandamme P, Huys G** (2008). Diversity of lactic acid bacteria in two Flemish artisan raw milk Gouda-type cheeses. *Food Microbiol* **25**(7):929–35.
13. **Wyder AB, Boss R, Naskova J, Kaufmann T, Steiner A, Graber HU** (2011). *Streptococcus* spp. and related bacteria: their identification and their pathogenic potential for chronic mastitis - a molecular approach. *Res Vet Sci* **91**(3):349–57.
14. **Rubin L, Sprecher H, Kabaha A, Weber G, Teitler N, Rishpon S** (2007). Meningitis following spinal anesthesia: 6 cases in 5 years. *Infect Control Hosp Epidemiol* **28**(10):1187–90.
15. **Wilson M, Martin R, Walk ST, Young C, Grossman S, McKean EL, Aronoff DM** (2012). Clinical and laboratory features of *Streptococcus salivarius* meningitis: a case report and literature review. *Clin Med Res* **10**(1):15–25.
16. **Nam H-M, Lim S-K, Kang H-M, Kim J-M, Moon J-S, Jang K-C, Joo Y-S, Kang M-I, Jung S-C** (2009). Antimicrobial resistance of streptococci isolated from mastitic bovine milk samples in Korea. *J Vet Diagn Invest* **21**(5):698–701.
17. **Nakajima T, Nakanishi S, Mason C, Montgomery J, Leggett P, Matsuda M, Coulter WA, Millar BC, Goldsmith CE, Moore JE** (2013). Population structure and characterization of viridans group

streptococci (VGS) isolated from the upper respiratory tract of patients in the community. *Ulster Med J* **82**(3):164–8.

18. **Palma TH, Harth-Chú EN, Scott J, Stipp RN, Boisvert H, Salomão MF, Theobaldo JD, Possobon RF, Nascimento LC, McCafferty JW, Faller L, Duncan MJ, Mattos-Graner RO** (2016). Oral cavities of healthy infants harbour high proportions of *Streptococcus salivarius* strains with phenotypic and genotypic resistance to multiple classes of antibiotics. *J Med Microbiol* **65**(12):1456–64.
19. **Chaffanel F, Charron-Bourgoin F, Libante V, Leblond-Bourget N, Payot S** (2015). Resistance Genes and Genetic Elements Associated with Antibiotic Resistance in Clinical and Commensal Isolates of *Streptococcus salivarius*. *Appl Environ Microbiol* **81**(12):4155–63.
20. **Wescombe PA, Heng NCK, Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR** (2009). Streptococcal bacteriocins and the case for *Streptococcus salivarius* as model oral probiotics. *Future Microbiol* **4**(7):819–35.
21. **Wescombe PA, Hale JDF, Heng NCK, Tagg JR** (2012). Developing oral probiotics from *Streptococcus salivarius*. *Future Microbiol* **7**(12):1355–71.
22. **Di Pierro F, Donato G, Fomia F, Adami T, Careddu D, Cassandro C, Albera R** (2012). Preliminary pediatric clinical evaluation of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in preventing recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by *Streptococcus pyogenes* and recurrent acute otitis media. *Int J Gen Med* **5**:991–7.
23. **Di Pierro F, Adami T, Rapacioli G, Giardini N, Streitberger C** (2013). Clinical evaluation of the oral probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the prevention of recurrent pharyngitis and/or tonsillitis caused by *Streptococcus pyogenes* in adults. *Expert Opin Biol Ther* **13**(3):339–43.
24. **Masdea L, Kulik EM, Hauser-Gerspach I, Ramseier AM, Filippi A, Waltimo T** (2012). Antimicrobial activity of *Streptococcus salivarius* K12 on bacteria involved in oral malodour. *Arch Oral Biol* **57**(8):1041–7.
25. **Di Pierro F, Risso P, Poggi E, Timitilli A, Bolloli S, Bruno M, Caneva E, Campus R, Giannattasio A** (2018). Use of *Streptococcus salivarius* K12 to reduce the incidence of pharyngo-tonsillitis and acute otitis media in children: a retrospective analysis in not-recurrent pediatric subjects. *Minerva Pediatr* **70**(3):240–5.
26. **Mokhtar M, Rismayuddin NAR, Mat Yassim AS, Ahmad H, Abdul Wahab R, Dashper S, Arzmi MH** (2021). *Streptococcus salivarius* K12 inhibits *Candida albicans* aggregation, biofilm formation and dimorphism. *Biofouling* **37**(7):767–76.
27. **Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, Tagg JR, Thomson WM, Hale JDF, Wescombe PA** (2013). Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Med Microbiol* **62**(Pt 6):875–84.
28. **FDA** (2015). GRAS Exemption Claim for *Streptococcus salivarius* K12 <https://www.fda.gov/media/96830/download>
29. **FDA** (2018). GRAS Notice for *Streptococcus salivarius* M18 <https://www.fda.gov/media/133874/download>
30. **Di Pierro F, Zanvit A, Nobili P, Risso P, Fornaini C** (2015). Cariogram outcome after 90 days of oral treatment with *Streptococcus salivarius* M18 in children at high risk for dental caries: results of a randomized, controlled study. *Clin Cosmet Investig Dent* **7**:107–13.
31. **Santagati M, Scillato M, Patanè F, Aiello C, Stefani S** (2012). Bacteriocin-producing oral streptococci and inhibition of respiratory pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol* **65**(1):23–31.
32. **Cantarutti A, Rea F, Donà D, Cantarutti L, Passarella A, Scamarcia A, Lundin R, Damiani V, Giaquinto C, Corrao G** (2020). Preventing recurrent acute otitis media with *Streptococcus salivarius* 24SMB and *Streptococcus oralis* 89a five months intermittent treatment: An observational prospective cohort study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* **132**:109921.
33. **Passali D, Passali GC, Vesperini E, Cocca S, Visconti IC, Ralli M, Bellussi LM** (2019). The efficacy and tolerability of *Streptococcus salivarius* 24SMB and *Streptococcus oralis* 89a administered as nasal spray in the treatment of recurrent upper respiratory tract infections in children. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **23**(1 Suppl):67–72.
34. **La Mantia I, Varricchio A, Di Girolamo S, Minni A, Passali GC, Ciprandi G** (2019). The role of bacteriotherapy in the prevention of adenoidectomy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **23**(1 Suppl):44–7.
35. **Fields FR, Li X, Navarre WW, Naito M** (2020). Complete Genome Sequence of *Streptococcus salivarius* DB-B5, a Novel Probiotic Candidate Isolated from the Supragingival Plaque of a Healthy Female Subject. *Microbiol Resour Announc* **9**(40):e00916-20.

36. **Li X, Fields FR, Ho M, Marshall-Hudson A, Gross R, Casser ME, Naito M** (2021). Safety assessment of *Streptococcus salivarius* DB-B5 as a probiotic candidate for oral health. *Food Chem Toxicol* **153**:112277.
37. **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 27.01.2022.
38. **ABAS** (2017). Begründungspapier zur Einstufung von *Streptococcus salivarius* https://www.baua.de/DE/Aufgaben/Geschaeftsfuehrung-von-Ausschuessen/ABAS/pdf/Streptococcus-salivarius-2.pdf?__blob=publicationFile&v=2