



Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Naegleria gruberi
als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV

Allgemeines

Innerhalb der Familie der *Vahlkampfiidae* zeichnen sich die Vertreter der Gattung *Naegleria* durch die Fähigkeit aus, von teilungsfähigen amöboiden Stadien (Trophozoiten) zu nicht-teilungsfähigen Flagellen-haltigen Stadien transformieren zu können und darüber hinaus überdauerungsfähige Zysten zu bilden. Sie sind weltweit freilebend in Böden, Schlamm, Flüssen und Seen verbreitet und ernähren sich phagozytotisch. Die bestuntersuchte Spezies innerhalb der Gattung stellt *Naegleria gruberi* dar [1]. 1899 als erster „Amöboflagellat“ entdeckt [2], liegt inzwischen die vollständige Genomsequenz eines *Naegleria gruberi*-Stammes vor [3]. Aufgrund morphologischer Ähnlichkeiten innerhalb der Gattung und wegen des besonderen Entwicklungszyklus wurde eine präzise Spezieszuordnung erst durch biochemische und molekularbiologische Methoden möglich [1]. So wurden bis zur Beschreibung der pathogenen Spezies *N. fowleri* 1970 [4] alle als nicht-pathogen beschriebenen Isolate zunächst der Spezies *N. gruberi* zugeordnet. Derzeit sind ca. 30 Spezies beschrieben [5]. Die fakultativ humanpathogene Spezies *N. fowleri* zeichnet sich gegenüber *N. gruberi* durch ein thermophiles Wachstumsverhalten aus [5]. Während *N. fowleri* Temperaturen bis 45 °C toleriert, sind es bei *N. gruberi* je nach Stamm maximal 39 °C; optimale Bedingungen findet die Amöbe zwischen 22 °C und 35 °C. So zeigten Experimente zur Pathogenität von *N. gruberi* weder im Tiermodell, noch in Zellkultur einen Effekt, wenn diese bei 37 °C durchgeführt werden [6]. Wird die Temperatur jedoch auf 30 °C gesenkt, sind zytopathische Effekte auf verschiedene Mammalia-Zelllinien zu erkennen [7-9]. Mit *N. fowleri* werden verschiedene Virulenzfaktoren wie Proteasen, Poren-bildende Proteine und Phospholipase A assoziiert. Neben immunmodulatorischen Faktoren [10] wird zudem der direkte Kontakt zur Zielzelle diskutiert. So unterscheiden sich *N. fowleri* und *N. gruberi* in den auf der Zellmembran präsentierten Glykokonjugaten [11] und durch die funktionelle Expression des Pseudopodien-spezifischen Proteins Nfa1, welches rekombinant in *N. gruberi* exprimiert, der Amöbe eine erhöhte Zytopathogenität bei 27 °C verleiht [12, 13].

Von der Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie (BG RCI) werden die *Naegleria* sp. mit Ausnahme von *Naegleria fowleri* der Risikogruppe 2 zugeordnet [14]. In der ATCC-Stammsammlung ist *Naegleria gruberi* als *biosafety level 1*-Organismus geführt.

Bewertung

Gemäß § 5 Abs. 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Naegleria gruberi* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Bei *Naegleria gruberi* handelt es sich um einen weit verbreiteten Einzeller, der hinsichtlich Herkunft und Wachstumsbedingungen soweit charakterisiert sind, dass ein pathogenes Potenzial für Mensch, Tier und Umwelt nach derzeitigem Erkenntnisstand nicht zu erwarten ist. Auch wenn unter bestimmten Bedingungen in Zellkulturexperimenten eine zytolytische Aktivität der Amöben nachgewiesen worden ist, kann aufgrund der Temperaturabhängigkeit eine Pathogenität im Tiermodell nicht gezeigt werden. Berichte von Mensch- und Tierinfektionen liegen zudem nicht vor.

Literatur

- [1] De Jonckheer JF (2002). A century of research on the amoeboflagellate genus *Naegleria*. *Acta Protozool* 41:309-342.
- [2] Schardinger F (1899). Entwicklungskreis einer *Amoeba lobosa* (Gymnamoeba): *Amoeba gruberi*. Sitzb Kaiserl Akad Wiss Wien Abt.1 108:713-734.
- [3] Fritz-Laylin LK, Prochnik SE, Ginger ML, Dacks JB, Carpenter ML *et al.* (2010). The genome of *Naegleria gruberi* illuminates early eukaryotic versatility. *Cell* 140(5):631-642.
- [4] Carter FF (1970). Description of a *Naegleria* sp. isolated from two cases of primary amoebic meningoencephalitis and the experimental pathological changes induced by it. *J Pathol* 100:217-244.
- [5] De Jonckheere JF (2011). Origin and evolution of the worldwide distributed pathogenic amoeboflagellate *Naegleria fowleri*. *Inf Gen Evol* 11:1520-1528.
- [6] Cursons RTM, Brown TJ (1978). Use of cell culture as an indicator of pathogenicity of free-living amebae. *J Clin Pathol* 31:1-11.
- [7] John DT, John RA (1990). Mammalian cell cultures affected by *Naegleria gruberi*. *Folia Parasitol* 37:107-113.
- [8] Brown T (1980). The cytopathogenicity of non-pathogenic species of *Naegleria* in mammalian cell cultures. *Proc Pathol Soc Great Britain and Ireland* 141 Mtg.:19-20.
- [9] Marciano-Cabral FM, Bradley SG (1982). Cytopathogenicity of *Naegleria gruberi* for rat neuroblastoma cell cultures. *Infect Immun* 35(3):1139-1141.
- [10] Marciano-Cabral F, Cabral GA (2007). The immune response to *Negleria fowleri* amoebae and pathogenesis of infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 51:243-259.
- [11] Cervantes-Sandoval I, Serrano-Luna JJ, Pacheco-Yépez J, Silva-Olivares A, Tsutsumi V, Shibayama M (2010). Differences between *Naegleria fowleri* and *Naegleria gruberi* in expression of mannose and fucose glycoconjugates. *Parasitol Res* 106:695-701.
- [12] Jeong SR, Lee SC, Song KJ, Park S, Kim K, Kwon MH, Im KI, Shin HJ (2005). Expression of the *nfa1* gene cloned from pathogenic *Naegleria fowleri* in nonpathogenic *N. gruberi* enhances cytotoxicity against CHO target cells *in vitro*. *Infect Immun* 73(7):4098-105.
- [13] Song KJ, Jeong SR, Park S, Kim K, Kwon MH, Im KI, Pak JH, Shin HJ (2006). *Naegleria fowleri*: Functional expression of the Nfa1 protein in transfected *Naegleria gruberi* by promoter modification. *Exp Parasitol* 112:115-120.
- [14] B 005e (BGI 632-e). Classification of Biological Agents: Parasites (8/2002).