



Az.: 6790-10-56

Januar 1998

Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung von *Escherichia coli* C als Spender- und Empfänger- organismus bei gentechnischen Arbeiten zu Forschungszwecken

I. Einführung

Bakterien der Art *Escherichia coli* umfassen ein breites Spektrum von physiologisch, ökologisch und pathogenetisch unterschiedlich zu bewertenden Organismen. Sie sind einerseits als harmlose Kommensale Bestandteil der normalen Darmflora, andererseits mit verschiedenen Virulenzfaktoren ausgestattet und daher in der Lage, bei Mensch und Tier Erkrankungen auszulösen.

Gegenwärtig sind innerhalb dieser Art aufgrund der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten gemäß § 5 Abs. 6 GenTSV nur *E. coli* K12 und Derivate, *E. coli* B und Derivate sowie die Einzelstämme *E. coli* ATCC 9637, *E. coli* NCIB 8743 sowie *E. coli* CCM 2843 in die Risikogruppe 1 eingeordnet.

Die beiden Stämme *E. coli* ABLE K und *E. coli* ABLE C der Fa. Stratagene leiten sich von dem Laborstamm *E. coli* C ab. Sie eignen sich besonders für die Klonierung von Genen, deren Genprodukte in *E. coli* toxisch wirken, da durch eine 4-fach bzw. 10-fach reduzierte Plasmidkopienzahl die Bakterienzelle weniger geschädigt wird.

Da diese Stämme bei gentechnischen Arbeiten vermehrt als Empfängerorganismen eingesetzt werden, wurde die ZKBS um eine Überprüfung gebeten, ob *E. coli* C und die hiervon abgeleiteten Stämme der Risikogruppe 1 zugeordnet werden können.

II. Mikrobiologische Eigenschaften von *E. coli* C und dessen Derivaten

E. coli C wird - vergleichbar mit *E. coli* B - in der biomedizinischen Forschung seit nahezu vierzig Jahren vielfach eingesetzt. Der Stamm wurde 1959 vom R. L. Sinsheimer zum ersten Male beschrieben (J. Mol. Biol. 1, 37-53 [1959]). Ursprünglich als Wirtsstamm zum Nachweis von Coliphagen aus Wasser und Abwasser verwendet, wurde *E. coli* C in späteren Arbeiten in erster Linie als Wirtsstamm für den Phagen ϕ X174 sowie für Phagen der P2-Familie eingesetzt. Bearbeitet wurden mit diesem Bakterienstamm dann auch vielfältige andere Fragestellungen der bakteriologischen Grundlagenforschung und der Infektionsabwehr, so u.a. die Makrophagenfunktion sowie die bakterielle Translokation, die Permeation von Bakterien durch die Darmwand.

Bei dieser langjährigen experimentellen Verwendung ergaben sich offensichtlich keine Hinweise für pathogene Eigenschaften des Stammes bzw. für eine besondere Gefährdung des Experimentators. Es ergaben sich aus der Literatur keine Hinweise dafür, daß *E. coli* C bei Tieren oder beim Menschen Erkrankungen auslösen kann.

Durch das Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin sowie das Robert Koch-Institut wurden *Escherichia coli* C sowie die beiden Derivate hinsichtlich ihrer Virulenzmerkmale sowie weiterer mikrobiologischer Eigenschaften untersucht. Hierbei wurden die nachfolgend dargestellten Ergebnisse erhalten.



Diese Stämme weisen eine Spontanagglutination auf - sie besitzen keine O-Antigen-spezifischen Seitenketten des LPS - und sind unbeweglich. Sie bilden weder Hämolyse noch Colicine.

Sie gehören weder zu den enteroinvasiven Pathovaren (EIEC), noch zu den enteropathogenen Pathovaren (EPEC, geprüft durch Antiseren), noch zu den enterohämorrhagischen *E. coli*-Stämmen (EHEC, Ausschluß einer Verotoxinbildung sowie des entsprechenden Gens *stx*, des *eaeA*-Antigens (Adhäsion Intimin) und des EHEC-Hämolyseins).

Auch eine mögliche Zugehörigkeit zur Gruppe der klassischen Enterotoxinbildner (ETEC) wurde durch die Untersuchung auf Bildung der Toxine LT, STI und STII ausgeschlossen.

Der Ausgangsstamm *E. coli* C trägt keine Antibiotikaresistenzmarker, die beiden ABLE-Derivate erwiesen sich als resistent gegenüber Kanamycin und Tetrazyklin.

III. Empfehlung der ZKBS

Auf der Grundlage der experimentell erwiesenen und langen sicheren Verwendung sowie der Abwesenheit aller wesentlichen Virulenzfaktoren für pathogene *Escherichia coli*-Stämme ist festzustellen, daß die Stämme *E. coli* C, *E. coli* ABLE K und *E. coli* ABLE C kein Risiko für die menschliche Gesundheit darstellen, daß sie darüber hinaus auch nicht tierpathogen sind, und daß von ihrem Einsatz im Labor keine nachteiligen Folgen für die Umwelt zu erwarten sind.

Die genannten Stämme sind deshalb in die Risikogruppe 1 einzuordnen.

Anmerkung:

Aufgrund verkürzter und ungenauer Zitierungen konnte die Veröffentlichung mit eindeutigen Hinweisen zur Erstisolierung von *E. coli* C bisher nicht aufgefunden werden. Diese Quelle wird nach Vorliegen der Originalarbeit noch eingefügt.