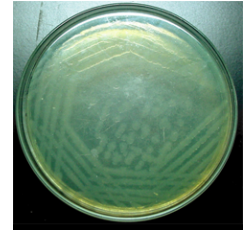


Begründungspapier zur Einstufung von *Pseudomonas putida* in Risikogruppe 2 nach BioStoffV

Stand September 2011



Pseudomonas putida
(Agar-Kultur mit Pyoverdin-Bildung)

Allgemeine Angaben

Name (Synonyma):

Pseudomonas putida (Trevisan 1889) Migula 1895^{AL} [„*Bacillus fluorescens putidus*“ Flüge 1886, „*Bacillus putidus*“ Trevisan 1889, „*Pseudomonas eisenbergii*“ Migula 1900, „*Pseudomonas convexa*“ Chester 1901, „*Pseudomonas incognita*“ Chester 1901, „*Pseudomonas ovalis*“ Chester 1901, „*Pseudomonas rugosa*“ (Wright 1895) Chester 1901, „*Pseudomonas striata*“ Chester 1901, *Arthrobacter siderocapsulatus* Dubinina and Zhdanov 1975].

Erstbeschreibung:

1.) Trevisan, V. (1889) I Generi e le Specie delle Batteriacee, Zanaboni and Gabuzzi, Milano, pp. 1-35 [53];
2.) Migula, W. (1895) *Bacteriaceae* (Stäbchenbakterien). In: A. Engler und K. Prantl (Hrsg.) Die natürlichen Pflanzenfamilien. W. Engelmann, Leipzig, Teil I, Abteilung Ia, pp. 1-44 [35].

Etymologie: L. fem. adj. *putida*, faulig, widerlich.

Pathovarietäten:

Pseudomonas putida mt-2 KT2440 – anerkannter Sicherheitsstamm (US Federal Register 1982); in Anhang II „Biologische Sicherheitsmaßnahmen“ der GenTSV zusammen mit den Vektoren pKT 262, pKT 263 und pKT 264 als biologische Sicherheitsmaßnahme anerkanntes Vektor-Empfänger-System.

Typstamm:

ATCC 12633 = CCUG 12690 = CFBP 2066 = CIP 52.191 = DSM 291 = HAMBI 7 = IFO (jetzt NBRC) 14164 = JCM 13063 = JCM 20120 = LMG 2257 = NCAIM B.01634 = NCCB 72006 = NCCB 68020 = NCTC 10936.

Risikogruppe des Wildtyps:

RG 2 ht (TRBA 466, B 006); **RG 1** (Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen – GenTSV).

Konsiliarlabor/Referenzlabor:

Für *klinische Isolate*: Nationales Referenzzentrum für gramnegative Krankenhauserreger; Abteilung für Medizinische Mikrobiologie, Prof. Dr. S. Gatermann, Dr. M. Kaase, Ruhr-Universität Bochum, Universitätsstraße 150, 44801 Bochum; für *Umweltisolate*: Dr. B. J. Tindall, DSMZ, Inhoffenstraße 7b, 38124 Braunschweig.

Molekularbiologie, Morphologie und Physiologie

Genom:

Größe: 6,182Mb; 61,6 mol% G+C; das Genom von *Pseudomonas putida* mt-2 KT2440 wurde inzwischen vollständig sequenziert [37]. Es besteht aus einem auffällig großen Ringchromosom von 6.181.863bp mit 5420 potenziellen Protein-kodierenden Genen (ORFs). Rund 10% der Gene kodieren für Produkte für die Genregulation. Für 85% der Gene finden sich homologe ORFs im Genom von *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Plasmide waren nicht vorhanden. Die Anwesenheit von 894 paralogen Genfamilien mit zahlreichen, unterschiedlichen IS-Elementen auf dem Chromosom wird als Ursache für die physiologische Vielseitigkeit dieses Stammes diskutiert [36, 37]. Die Ähnlichkeit des 16S rRNA-Gens innerhalb der Gattung *Pseudomonas* beträgt 93–99,9%, sodass weder eine Definition von *Pseudomonas*-Spezies noch ihre Identifizierung allein mittels 16S rRNA-Gen-Sequenzierung sicher möglich ist [36]! Die annähernd komplette 16S rRNA-Sequenz umfasst etwa 1.540 Nukleotide.

Zelluläre und kulturelle Morphologie:

Gerade bis leicht gebogene, gramnegative Stäbchenbakterien (1,5–5,0 x 0,5–1,0 µm), einzeln, paarweise oder in kurzen Ketten; Bildung sehr langer Zellen möglich; beweglich durch die Anwesenheit einer oder mehrerer polarer Geißeln; runde grau-grüne Kolonien, von fluoreszierender bzw. grüner Zone (Pyoverdin) umgeben, besonders ausgeprägt bei Eisenmangel [36, 40, 56]; keine Kapselbildung [36].

Physiologie:

Chemoorganoheterotroph; strikt aerob; mesophil mit breitem Temperaturspektrum (Wachstum von ≥ 4 bis $\leq 40^\circ\text{C}$; optimale Wachstumstemperatur $25\text{--}30^\circ\text{C}$); neutrophil (pH 4–8, optimales Wachstum bei pH 7) [36, 40]. Die Spezies ist komplex und umfasst mindestens zwei Biovarietäten (Biovars A und B), die sich nicht nur anhand phänotypischer Merkmale, sondern auch anhand ihrer 16S rRNA-Gensequenzen unterscheiden lassen, wenn die variablen Regionen des Gens nicht gewertet werden [40, 57].

Charakteristische diagnostische Merkmale:

Oxidase-positiv [36, 40], Katalase-positiv [36, 40]. Bildung von Pyoverdin (= Fluorescein) auf King B und anderen Medien; keine Bildung von Pyocyanin auf King A und anderen Medien [23]; Wachstum auf Mineralmedium nach Palleroni & Doudoroff (1972) [41] unter Verwertung zahlreicher organischer Verbindungen als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle. In zwei umfangreichen Studien verwertete jeweils ein *P. putida*-Stamm 77 von 200 bzw. 80 von 150 Verbindungen [36]. Die beiden Biovarietäten von *P. putida* lassen sich anhand der Verwertung von Testosteron, L-Tryptophan, L-Kynurenin und Anthranilat durch Biovar B unterscheiden (Biovar A kann diese Verbindungen nicht verwerten!) [40]. Das komplexe Verwertungsmuster einer größeren Zahl verschiedener C-Quellen kann auch zur Abgrenzung von anderen *Pseudomonas*-Arten benutzt werden [40].

Natürlicher Standort

Nicht obligat wirtsgebunden; ubiquitär in der Umwelt (Boden, Wasser, an Pflanzen): *P. putida* zeichnet sich wie die meisten *Pseudomonas*-Spezies durch eine hohe stoffwechselphysiologische Vielseitigkeit aus, die bedingt durch die Anwesenheit zahlreicher Multidrug Efflux-Systeme die Anpassung an verschiedenste Standorte ermöglicht [1, 36]; freilebend an nährstoffarmen, aquatischen Habitaten, mutualistisch/kommensalisch auf Pflanzen (Rhizosphäre) und saprophytär-parasitär auf Mensch und Tier [36]. Manche Wurzel-kolonisierenden Stämme von *P. putida* bewirken eine „induzierte, systemische Resistenz“ bestimmter Pflanzen gegen die phytopathogenen Effekte von *Pseudomonas syringae* oder *Fusarium oxysporum* [54] sowie Schutz vor der Wurzelfäule von Avocado-Pflanzen durch den Pilz *Rosellinia necatrix* [43]. Pyoverdin ist ein Siderophor, der die Eisenaufnahme fördert [36]. Außerdem besitzt *P. putida* Gene, deren Produkte gegen oxidativen Stress wirksam sind: Superoxid-Dismutasen, Katalasen, (Betain)Aldehyddehydrogenasen u.a. [36].

Pathogenität

Pathogen für: Potenziell pathogen für Menschen [10] und Wirbeltiere (Fische) [4, 5, 45].

Pathogenitätsfaktoren/Pathogenese:

Die nachfolgend aufgeführten, potenziellen Pathogenitätsfaktoren wurden für den Stamm *P. putida* KT2440 beschrieben [36, 37]: Lipopolysaccharide (LPS) (O-Antigen); zusätzlich Produktion von Exopolysacchariden (EPS) (z.B. Cellulose) und Enzyme wie Glycosyl-Transferasen, Serin-O-Acetyltransferase, Deoxy-D-mannooctulosäure-(KDO)-Transferase und Adhäsine (Typ IV-Pili) führen zu ausgeprägtem Adhäsionsvermögen an Zelloberflächen [35, 44]. Mögliche weitere Pathogenitätsfaktoren sind: Siderophor(Eisen-Aufnahme/Bindung)-Produktion (Pyoverdin) – ermöglicht das Überleben im Wirt; Ankyrin-Domain-Protein, Hämolyisin-ähnliches Calcium-bindendes Bacteriocin, Endoglucanase, Phospholipase D, Transglycosylasen, hlyD(Hämolyisin)-Sekretionsprotein [36].

Alginat(Mukoexopolysaccharid)-Produktion wird für einige *P. putida*-Stämme diskutiert [36]. Alginat ist ein wesentlicher Bestandteil bei der Biofilmbildung, welche die Abwehrmechanismen im immunsupprimierten Wirt beeinträchtigen und die Wirksamkeit von Antibiotika reduzieren kann [1]. Ob *P. putida* KT2440 Alginat bilden kann, ist fraglich (*P. putida* KT2440 besitzt nur 23 der 24 Gene des Alginat-Biosynthese- und Regulationssystems von *P. aeruginosa*, wobei das Transkriptions-Regulationsgen *algM/mucC* fehlt [37], was zur Inaktivierung des Alginat-Biosynthese-Operons führen könnte) [36, 39].

Weiterhin wurde bei *P. putida* KT2440 das *gagA* Response-Regulatorgen gefunden, das im Zusammenspiel mit *gagS* (Sensorkinase) als *gagA-gagS*-Regulator-System die Expression verschiedener Virulenzgene in

phytopathogenen *P. syringae*- und human-pathogenen *P. aeruginosa*-Stämmen steuert, z.B. die Produktion von Syringomicin durch *P. syringae* oder die Pyocyanin-, Cyanid- und Lipase-Produktion durch *P. aeruginosa* [9, 36, 37].

Ausprägung der Pathogenität: Fakultativ oder opportunistisch pathogen.

Infektionsdosis:

Beim Menschen unbekannt (wahrscheinlich hoch und variabel), im Tierversuch mit Regenbogenforellen führte eine Konzentration von 5×10^6 koloniebildenden Einheiten von *P. putida* im Wasser des Versuchsbeckens bei einer Einwirkungszeit von 1 Stunde zum Verenden von 68 (45,3%) der exponierten 150 Fische [5].

Allergenität: Nicht bekannt.

Toxigenität:

Endotoxin (LPS) wird reichlich gebildet [22]: weitgehend gereinigtes Endotoxin von *P. putida* in einer geschätzten Dosis von 0,1 µg/kg Körpergewicht (bei einer Expositionszeit von 40 Minuten) bewirkte im Inhalationsversuch mit Meerschweinchen als Versuchstieren bei Untersuchung nach 24 Stunden eine verstärkte Einwanderung von Leukozyten (vor allem neutrophilen Granulozyten und Makrophagen) in die Atemwege. LPS von *Pantoea agglomerans* hatte einen ähnlichen Effekt; LPS von *Klebsiella oxytoca* war unter entsprechenden Versuchsbedingungen stärker, LPS von *Escherichia coli* schwächer und LPS von *Agrobacterium* sp. und „*Xanthomonas sinensis*“ kaum wirksam [20]; LPS von *P. putida* und anderen gramnegativen Bakterien steht außerdem möglicherweise in ursächlichem Zusammenhang mit der Entwicklung des chronischen Erschöpfungssyndroms und der Depression [32, 33]; Bildung von Exotoxinen im engeren Sinne (AB-Toxinen) ist bei *P. putida* nicht bekannt.

Krankheit

Bezeichnung:

P. putida ist Erreger unspezifischer Infektionskrankheiten (Krankheiten, bei denen eine Erregerart nicht streng mit einem dazu gehörenden Krankheitsbild korreliert ist) bei Mensch [10, 58] und Tier [4, 5, 45]:

Erkrankungen beim Menschen: Weichteilinfektion an den Beinen (Unterschenkel, Füße) nach Waten in Überschwemmungswasser/-schlamm mit anschließender Sepsis bei 78-jähriger Patientin ohne nachweisbare prädisponierende Faktoren [11]; spontan aufgetretene („community acquired“) Meningitis mit begleitender Bakteriämie bei 79-jähriger Patientin mit mangelhafter Körperpflege, aber ohne besondere prädisponierende Faktoren [51] sowie bei Thalassämie [17] oder als Folge einer extraventrikulären Drainage [58]; Wundinfektionen, auch im Rahmen von Kriegsverletzungen (Explosionstrauma) und nach operativen Eingriffen [10, 29, 46, 58]; Sepsis-Ausbruch auf einer Neugeborenen-Intensivstation [8]; Sepsis durch kontaminierte Spüllösungen auf einer normalen Neugeborenenstation [42], als Folge kontaminierter Blutkonserven [49], Infusionslösungen [50] bzw. Desinfektionslösungen [6] oder als Folge von Abwehrminderung [13] oder Selbstverstümmelung [26]; großflächige, bullöse Hautveränderungen bei 9 Tage altem, männlichen Neugeborenen ähnlich dem „Staphylococcal Scalded Skin Syndrome (SSSS) [27]; Kathetersepsis als häufige Form der *P. putida*-Infektion [2, 18, 25, 34, 58, 60]; Cholangitis als Folge einer Gallengangsdrainage [58]; akute Gallenblasenentzündung bei autoimmuner hämolytischer Anämie [58]; Sepsis bei malignen Blutkrankheiten und bösartigen, soliden Tumoren [2, 18, 34, 58] sowie nach operativen Eingriffen, insbesondere am Herzen [46]; Endocarditis [58]; Peritonitis bei Peritonealdialyse [14, 28, 47]; septische Arthritis [30, 31]; Thrombophlebitis [58]; akute Tonsillitis [58]; Otitis [29]; Keratitis [59]; Pneumonie [3, 16, 29, 58] Harnwegsinfektionen [3, 15, 21, 29, 48, 55]; chronisches Erschöpfungssyndrom (chronic fatigue syndrome) durch transloziertes LPS („leaky gut“) von *P. putida* [33].

Erkrankungen beim Tier: Subakute bis chronische, schwere Allgemeininfektion (schleimige Hauteffloreszenzen, profuse Entzündung der Kiemen mit Schleimbelag) Nekrosen in Nieren, Milz, Schwimmblase, Muskeln, Ovar, Darmserosa, Mesenterium, Subkutis, weniger in der Leber) bei zu Versuchszwecken mit und ohne Stressbedingungen gehaltenen Austern(kröten)fischen (*Oyster Toadfish – Opsanus tau*) [45]; spontaner Ausbruch einer schweren nekrotisierenden Infektion bei ohne Stressbedingungen in Zuchtbecken gehaltenen Regenbogenforellen (Krankheitszeichen: zunächst weißliche Verfärbung der Rückenflosse, dann Nekrose der Rückenflosse und des dorsalen Integuments der Fische; fortschreitende Nekrose legt zunächst die Muskulatur frei und schreitet bis zur Wirbelsäule fort, so dass die Nieren von außen sichtbar werden. Obwohl die inneren Organe normal erscheinen, lässt sich *P. putida* auch aus ihnen in Reinkultur isolieren. Mit dem isolierten Stamm von *P. putida* kann die Krankheit experimentell reproduziert werden [5].

Inkubationszeit:

Beim Menschen Zwei [12] bis 12 [10] Tage nach mutmaßlichem Kontakt mit erregerrhaltigem Material (Überschwemmungswasser/Schlamm, Erdboden), wahrscheinlich aber noch variabler in Abhängigkeit von Infektionsdosis, Eintrittspforte und Abwehrlage des betroffenen Patienten.

Im Tierversuch mit Regenbogenforellen fanden sich die ersten toten Fische 7 Tage nach Exposition, während 42 Tage nach Exposition keine Fische mehr starben [5]. Die Inkubationszeit lag hier also bei einem Teil der exponierten Fische bei weniger als 7 Tagen, schien aber auch deutlich länger sein zu können.

Symptome:

Beim Menschen: Regelmäßig Leukozytose und erhöhte Körpertemperatur [10, 12, 51, 58], bei kutanen und subkutanen Infektionen Rötung und Schwellung [12], beim Säugling eventuell mit Blasenbildung [27], sonst in Abhängigkeit von der Hauptlokalisation des Infektionsprozesses Zeichen einer (Katheter)Sepsis, Meningitis, Wundinfektion, Gallengangs- oder Gallenblasenentzündung, Bauchfellentzündung, Lungenentzündung, Mandelentzündung, Thrombophlebitis, Harnwegsinfektion oder Augenhornhautentzündung [10, 59].

Beim Tier: Austern(kröten)fisch: multiple Schleimkügelchen bis zu dicker Schleimschicht auf der Haut, Kiemen fleischig und schleimbedeckt [45]; Regenbogenforelle: Krankheitsbeginn mit weißlicher Verfärbung an der Spitze der Rückenflosse, dann Nekrose der Rückenflosse und der Rückenoberfläche mit Freilegung der darunter liegenden Muskulatur, Ausbreitung der Nekrosen bis zur dorsalen Wirbelsäule mit Sichtbarkeit der Nieren von außen, weiterhin hervortretende Augen, dunkle Pigmentierung, dorsal ausgefranst, moribunde Fische sind lethargisch und verlieren die Balance [5].

Schwere, Verlauf und Prognose:

Infektionen, insbesondere septische Infektionen, beim Menschen meist schwer verlaufend, aber bei wirksamer antibiotischer Therapie heilbar; Todesfälle überwiegend bei vorgeschädigten Patienten und/oder unzureichender Behandlung [10, 58]; die bisher bei Fischen beobachteten Infektionen wiesen eine beträchtliche Morbidität (Austern(kröten)fisch: 34%), Mortalität (Regenbogenforelle: 35% bei spontan aufgetretener Epizootie, 45% bei experimenteller Infektion) und Letalität auf [4, 45].

Komplikationen/Folgekrankheiten:

Typische Komplikation ist die *P. putida*-Sepsis, sofern diese nicht unmittelbar durch kontaminierte Infusionslösungen hervorgerufen wird. Heilt die Erkrankung, gelegentlich ohne spezifische Therapie, aus, bleiben, evtl. außer Narben (Haut, Augenhornhaut), keine Spätfolgen oder Folgekrankheiten zurück [10, 59].

Pathologie:

Pathologisch-anatomische Veränderungen beim Menschen entsprechen denen anderer unspezifischer Infektionen durch gramnegative Bakterien. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen bei Fischen werden wie folgt beschrieben: Austern(kröten)fisch: Peritoneum verdickt und trüb, weißes bis braunes, flockiges bis flüssiges Exsudat in der Bauchhöhle, kleine weiße/braune Knötchen in Milz und akzessorischen männlichen Geschlechtsorganen und Gonaden, selten in Leber und Niere, Schwimmblasennetz blutgestaut, ödematös und rötlich braun, histologisch schwere durch Makrophagen gekennzeichnete, bakterielle Peritonitis, multifokale Gewebenekroseherde, die zahlreiche, überwiegend aus Makrophagen bestehende Entzündungszellen enthalten, in Nieren, Milz, Schwimmblase, Muskulatur, Ovarien, Darmserosa, Mesenterium, Unterhautgewebe und Haut. In den Makrophagen lassen sich Bakterien nachweisen [45]; Regenbogenforelle: In den nekrotischen Ulzerationen fehlten praktisch alle Hautschichten, der Magen war leer und der Darm mit einer gelblichen Flüssigkeit gefüllt, Kiemen, Leber, Milz und Nieren der infizierten Fische zeigten keine pathologischen Veränderungen [5].

Diagnose:

Die Diagnose erfolgt klassisch durch Anzucht und Identifizierung des Erregers im bakteriologischen Laboratorium [10, 12, 51, 58]. Eine Diagnose durch Amplifikation des 16S rRNA-Gens und Sequenzierung unmittelbar aus klinischem Material ist aus den unter „Genom“ genannten Gründen nicht ohne weiteres zuverlässig [36], wird aber immer wieder – mit mehr oder weniger großem Erfolg – versucht [4].

Therapie:

Wegen der ausgeprägten und breiten Antibiotika-Resistenz kommen nur relativ wenige antibakterielle Pharmaka für die Behandlung in Betracht. Dies sind insbesondere Ceftazidim, Meropenem, Imipenem, Amikacin und Ciprofloxacin [10, 58]. Eine wirksame Behandlung der Fischerkrankungen ist bisher nicht bekannt.

Prophylaxe (Prävention):

Gewährleistung zuverlässiger Sterilität von Infusionslösungen, Blutkonserven und Flüssigkeiten zur Aufbewahrung von Kontaktlinsen wie bei anderen, überwiegend nosokomialen Infektionen durch gramnegative Bakterien. Eine spezifische Prophylaxe von sporadischen Infektionen außerhalb des Krankenhauses ist bis auf Augenhornhautinfektionen nicht möglich. Spezielle Präventionsmöglichkeiten von Infektionen bei Fischen in Becken oder Teichen sind nicht bekannt; empfohlen wird aber sorgfältige Wartung der Brutbecken [5].

Epidemiologie**Übertragungswege und Eintrittspforten:**

Menschliche Infektionen kommen durch Erregeraufnahme aus der Umwelt (z.B. Überschwemmungswasser bzw. -schlamm [12]) oder nosokomial aus dem Krankenhausmilieu zustande [10, 58]. Eintrittspforten sind je nach Primärlokalisation der Infektion die Haut (mit Mikroverletzungen?) [12], (Kriegs)Verletzungen [10], Venenkathetereintrittsstellen oder kontaminierte Infusions-, Transfusions-, Lokalanästhetika- oder Spülflüssigkeiten [42, 49, 58], Drainagen [58], Operationswunden, der Atemtrakt, der Harntrakt, insbesondere nach Operationen, bei obstruktiven Veränderungen oder bei Harnröhrenkatheterismus [3, 15, 21, 29, 48, 55], der Bauchraum, insbesondere bei CAPD-Patienten [14, 28, 47], kontaminiertes Injektionsmaterial bei Drogenmißbrauch [31], und das Auge, besonders über kontaminierte Kontaktlinsen [59].

Die *Infektionen der Fische* entstehen wahrscheinlich über das Wasser (Vermehrung der Erreger im Bodenschlamm?); die primäre Eintrittspforte ist offenbar die Haut, möglicherweise aber auch die Kiemen [5, 45].

Erregerreservoir:

Umwelt (ubiquitär in Boden, Wasser und an Pflanzen) [10, 12], kontaminierte Infusions- und Transfusionslösungen [49], kontaminierte Heparinlösung [11], kontaminierte Desinfektionslösungen [6], kontaminierte Drogen oder Drogenbestecke [31].

Infektionsentstehung:

Praktisch immer exogen aus der Umwelt bzw. dem Umfeld des Krankenhauspatienten oder durch Verwendung kontaminierter Arzneimittel, Instrumente, Desinfektionslösungen oder Spülflüssigkeiten [10, 58]; erregerhaltiges Oberflächenwasser, in dem Fische leben [5, 45].

Inzidenz/Prävalenz:

Bei einer MEDLINE-Recherche [10] fanden sich in der englischsprachigen internationalen Literatur zwischen 1954 und 2007 154 Veröffentlichungen mit 230 Fällen mutmaßlicher, *menschlicher P. putida*-Infektionen, von denen die Autoren 70% (=160 Fälle) als „echt“ einstufen. Bei den restlichen 30% handelte es sich wahrscheinlich um durch Verunreinigungen der Entnahme- oder Transportgefäße oder Laborverunreinigungen vorgetäuschte Infektionen [38, 61]. Von den 160 „echten“ Infektionen waren 39% Bakteriämien, 38% Harnwegsinfektionen, 13% Pneumonien, 4% Infektionen der Haut und der Weichteile, 4% Peritonitiden, 2% Infektionen des Zentralnervensystems, 2% Ohrinfektionen, 1% Gelenkinfektionen und 1% Infektionen der Augenhornhaut. 62% der als „echt“ bewerteten Infektionen waren nosokomial erworben. 40% davon standen im Zusammenhang mit Kathetern und ähnlichen Gerätschaften, und 25% gingen auf kontaminierte Infusionslösungen bzw. Blutprodukte zurück [10]. Zusätzlich zu den in der oben zitierten Erhebung zusammengestellten Fällen wurden bis Juni 2011 weitere 14 Fälle von *P. putida*-Infektionen veröffentlicht [eigene aktuelle Recherche], sodass die Gesamtzahl der seit 1954 publizierten menschlichen Erkrankungen 174 beträgt, wobei zu berücksichtigen ist, dass – natürlich – bei weitem nicht alle diagnostizierten und schon gar nicht alle auftretenden *P. putida*- Infektionen veröffentlicht werden.

Zur Häufigkeit von *P. putida*-Infektionen *bei Tieren* können noch keine Aussagen gemacht werden, da neben den beiden zitierten *Ausbrüchen* bei zu Versuchszwecken bzw. zur Aufzucht gehaltenen Fischen in der internationalen Literatur keine weiteren Berichte vorliegen.

Mortalität/Letalität:

Letalität *beim Menschen* 29% [58]; die Morbidität/Mortalität in dem oben erwähnten *Austern(kröten)-fischbestand* betrug 17 von 50 (34%); die Mortalität der spontan aufgetretenen Epizootie bei den *Regenbogenforellen* betrug 35%, die Mortalität/Letalität der experimentellen Infektionen lag bei 45% [5, 45].

Infektiosität/Kontagionsindex:

Wie bei vielen anderen fakultativ oder opportunistisch pathogenen Erregern sind Infektionen durch *P. putida* in der Regel nicht von Mensch zu Mensch übertragbar und treten deshalb meist als sporadische Einzelerkrankungen auf. Dennoch beobachtete Ausbrüche derartiger Infektionen sind in der Regel nosokomialer Natur und gehen auf kontaminierte Infusionslösungen oder Blutkonserven oder auf unzulängliche Hygiene beim Einsatz von Kathetern oder Drainagen zurück [10]. Ob die beiden Ausbrüche bei in Becken bzw. Teichen gehaltenen Fischen durch Ansteckung von Tier zu Tier oder durch Aufnahme der Erreger aus dem kontaminierten Wasser zustande kamen, ist nicht endgültig geklärt, obwohl die Infektionsversuche mit Regenbogenforellen [5] auf erregerhaltiges Wasser als Infektionsquelle hinweisen.

Widerstandsfähigkeit–Tenazität

Endosporenbildung: keine [36, 40].

Resistenzen (Trocknungs-, Chemo-, Thermo-, Strahlenresistenz):

Ausgeprägte „Umweltresistenz“ [19], toxische Substanzen werden durch die Anwesenheit zahlreicher Multidrug Efflux-Systeme effektiv aus den Zellen gepumpt [1, 36]: Resistenz gegen Schwermetalle, bestimmte organische Lösungsmittel und das Toxin des Pilzes *Fusarium oxysporum* [36]. Selbst einige Desinfektionsmittel sind wirkungslos [19]. Untersuchungen zur Toluoltoleranz des *P. putida*-Stammes IH-2000 zeigten, dass Membranvesikel, bestehend aus Phospholipiden, Lipopolysacchariden und sehr geringen Mengen von Membranproteinen, Toluol anreichern und dann abgeschieden werden, was zur Elimination des Toluols führt [24]. Sogar polychlorierte Biphenyle (PCBs) und chlorierte Dioxine werden von manchen Stämmen effizient abgebaut [36].

Antibiotikaresistenz:

Die Anwesenheit von Multidrug Efflux-Systemen (Multidrug-Transportproteine), Penicillin-Bindeproteinen, β -Laktamasen und Cardiolipin-Proteasen sind für die ausgeprägte Antibiotikaresistenz von *P. putida*-Stämmen verantwortlich [36]. Für *P. putida* KT2440 sind ca. 350 verschiedene Membrantransport-Systeme beschrieben, ca. 15% mehr als bei einem *P. aeruginosa*-Vergleichsstamm (*P. aeruginosa* POA1) [36]. Klinische *P. putida*-Isolate besitzen eine ausgeprägte Resistenz gegenüber β -Laktam-Antibiotika, auch in Kombination mit β -Laktamase-Inhibitoren, durch die Anwesenheit von Metallo- β -Laktamasen [15, 36, 58]. Carbapenem-Resistenz durch Bildung von unterschiedlichen Carbapenem-hydrolysierenden IMP- oder VIM-Typ Metallo- β -Laktamasen findet sich bei einem Teil der Stämme [3, 7, 15, 52, 5].

Arbeits- und Gesundheitsschutz

Schutzstufe/Sicherheitsstufe: **Schutzstufe 2** nach BioStoffV bzw. **Sicherheitsstufe 1(!)** nach GenTSV.

Gefährdende Tätigkeiten/Expositionssituationen: Umgang mit Massenkulturen und Freisetzung von Stämmen, deren humanpathogenes Potenzial nicht bekannt ist.

Spezielle tätigkeitsbezogene Sicherheitsmaßnahmen: Haut- und Schleimhautkontakt sowie Aerosolbildung vermeiden; Verschleppung vermehrungsfähiger Bakterien an medizinisches Instrumentarium oder in Infusionslösungen, Blutkonserven, Atemluftbefeuchter, Spülflüssigkeiten oder Desinfektionsmittellösungen verhindern.

Persönliche Schutzausrüstung (PSA): bei möglicher Aerosolbildung oder Spritzgefahr Atemschutz, Schutzbrille und Schutzhandschuhe.

Berufsbedingte Erkrankungen/gefährdete Personen und Berufsgruppen: bisher nicht bekannt.

Sofortmaßnahmen bei Unfällen/Erste Hilfe: desinfizierende Reinigung kontaminierter Bereiche, Händedesinfektion und Desinfektion kontaminierter anderer Hautoberflächen.

Arbeitsmedizinische Vorsorge: § 5 und Anhang Teil 2 Abs.2 Nr. 1b ArbMedVV.

Andere gesetzliche Regelungen: US Federal Register, 1982: *Pseudomonas putida* Stamm KT2440 durch das Recombinant DNA Advisory Committee als Sicherheitsstamm zertifiziert; Anhang II „Biologische Sicherheitsmaßnahmen“ der Gentechnik-Sicherheitsverordnung: *Pseudomonas putida* Stamm mt-2 KT2440 zusammen mit den Vektoren pK 262, pK 263 und pK 264 als biologische Sicherheitsmaßnahme anerkanntes Vektor-Empfänger-System.

Literatur

- [1] Adam, D., Doerr, H. W., Link, H., & Lode, H. (Hrsg.) (2004) Die Infektiologie. Springer, Berlin-Heidelberg.
- [2] Anaissie, E., Fainstein, V., Miller, P., Kassamali, H., Pitlik, S., Bodey, G. P., et al. (1987) *Pseudomonas putida*. Newly recognized pathogen in patients with cancer. *Am. J. Med.* 82 (6): 1191-1194.
- [3] Almuzara, M., Radice, M., de Garate, N., Kossman, A., Cuirolo, A., Santella, G., et al. (2007) VIM-2-producing *Pseudomonas putida*. *Buenos Aires Emerg. Infect. Dis.* 13 (4): 668-669.
- [4] Altinok, I. (2011) Multiplex PCR assay for detection of four major bacterial pathogens causing rainbow trout disease. *Dis. Aquat. Organ.* 93 (3): 199-206.
- [5] Altinok, I., Kayis, S. & Capkin, E. (2006) *Pseudomonas putida* infection in rainbow trout. *Aquaculture* 261: 850-855.
- [6] Aumeran, C., Paillard, C., Robin, F., Kanold, J., Baud, O., Bonnet, R., et al. (2007) *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* outbreak associated with contaminated water outlets in an oncohaematology paediatric unit. *J. Hosp. Infect.* 65: 47-53.
- [7] Bogaerts, P., Huang, T. D., Rodriguez-Villalobos, H., Bauraing, C., Deplano, A., Struelens, M. J., et al. (2008) Nosocomial infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas putida* isolates producing VIM-2 and VIM-4 metallo-beta-lactamases. *J. Antimicrob. Chemother.* 61 (3): 749-51.
- [8] Bouallegue, O., Mzoughi, R., Weil, F. X., Mahdhaoui, N., Salem, B. Y., Sboui, H., Grimont, K. & Grimont, P. A. (2004) Outbreak of *Pseudomonas putida* bacteraemia in a neonatal intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* 57: 88-91.
- [9] Cao, H., Baldini, R. L. & Rahme, L. G. (2001) Common mechanisms for pathogens of plants and animals. *Annu. Rev. Phytopathol.* 39: 259-284.
- [10] Carpenter, R. J., Hartzell, J. D., Forsberg, J. A., Babel, B. S. & Ganesan, A. (2008) *Pseudomonas putida* war wound infection in a US Marine: A case report and review of the literature. *J. Infect.* 56: 234-240.
- [11] Centers for Disease Control. Leads from the MMWR. (1986) Reported contamination of heparin sodium with *Pseudomonas putida*. *J. Am. Med. Assoc.* 255: 2419.
- [12] Chen, C.-H., Hsiu, R.-H., Liu, C.-E. & Young, T.-G. (2005) *Pseudomonas putida* bacteremia due to soft tissue infection contracted in a flooded area of central Taiwan: a case report. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 38: 293-295.
- [13] Chiu, C. H., Lin, T. Y. & Wu, J. L. (1998) Hypothermia predisposing to *Pseudomonas putida* sepsis in a child with panhypopituitarism. *J. Formos. Med. Assoc.* 97: 286-288.
- [14] Dervisoglu, E., Dundar, D. O., Yegenaga, I. & Willke, A. (2008) Peritonitis due to *Pseudomonas putida* in a patient receiving automated peritoneal dialysis. *Infection* 36 (4): 379-380.
- [15] Docquier, J. D., Riccio, M. L., Mugnaioli, C., Luzzaro, F., Endimiani, A., Toniolo, A., et al. (2003) IMP-12, a new plasmid-encoded metallo-beta-lactamase from a *Pseudomonas putida* clinical isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47 (5): 1522-15288.
- [16] Fujita, J., Negayama, K., Ohara, M., Hojo, S., Obayashi, Y., Miyawaki, H., et al. (1998) Pneumonia caused by *Pseudomonas putida* with a mucoid phenotype. *Respir. Med.* 92: 693-695.
- [17] Ghosh, K., Daar, S., Hiwase, D., et al. (2000) Primary pseudomonas meningitis in an adult, splenectomized, multitransfused thalassaemia major patient. *Haematologia* 30: 69-72.
- [18] von Graevenitz, A. & Weinstein, J. (1971) Pathogenic significance of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*. *Yale J. Biol. Med.* 44: 265-273.
- [19] Hahn, H., Falke, D., Kaufmann, S. H. E., & Ullmann, U. (Hrsg.) (2001): Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie, 4. Aufl. Springer, Berlin-Heidelberg.
- [20] Helander, I., Salkinoja-Salonen, M. & Rylander, R. (1980) Chemical structure and inhalation toxicity of lipopolysaccharides from bacteria on cotton. *Infect. Immun.* 29 (3): 859-862.
- [21] Horii, T., Muramatsu, H. & Inuma, Y. (2005) Mechanisms of resistance to fluoroquinolones and carbapenems in *Pseudomonas putida*. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 643-647.
- [22] Kadolina, I. B., Glazova, N. V. & Iunkerova, L. I. (1996) Isolation of bacterial endotoxins from *Pseudomonas putida* 36 and *Escherichia coli*. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.* 32: 496-499.
- [23] King, E. O., Ward, M. K. & Rainey, D. E. (1954) Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *J. Lab. Clin. Med.* 44: 301-307.
- [24] Kobayashi, H., Uematsu, K., Hirayama, H. & Horikoshi, K. (2000) Novel toluene elimination system in a toluene-tolerant microorganism. *J. Bacteriol.* 182 (22): 6451-6455.
- [25] Korcova, J., Koprnova, J. & Krcmery, V. (2005) Bacteraemia due to *Pseudomonas putida* and other *Pseudomonas non-aeruginosa* in children. *J. Infect.* 51: 81.
- [26] Kristensen, B., Tingsgaard, L. K. & Ejlersen, T. (1995) Self-induced bacteremia. Case report. *APMIS* 103: 475-476.

- [27] Ladhani, S. & Bhutta, Z. A. (1998) Neonatal *Pseudomonas putida* infection presenting as staphylococcal scalded skin syndrome. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17: 642-644.
- [28] Lew, S. Q. & Grula, A. (2005) *Pseudomonas putida* causing peritoneal dialysis-associated peritonitis. *Perit. Dial. Int.* 25: 503-505.
- [29] Lombardi, G., Luzzaro, F., Docquier, J. D., Riccio, M. L., Perili, M., Coli, A., et al. (2002) Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo-beta-lactamase. *J. Clin. Microbiol.* 40: 4051-4055.
- [30] MacFarlane, L., Oppenheim, B. A. & Lorrigan, P. (1991) Septicaemia and septic arthritis due to *Pseudomonas putida* in a neutropenic patient. *J. Infect.* 23: 346-347.
- [31] Madhavan, T., Fisher, E. J., Cox, F. & Quinn, E. L. (1973) *Pseudomonas putida* and septic arthritis. *Ann. Intern. Med.* 78: 971-972.
- [32] Maes, M., Kubera, M. & Leunis, J. C. (2008) The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram-negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 29 (1): 117-124.
- [33] Maes, M. & Leunis, J. C. (2008) Normalization of leaky gut in chronic fatigue syndrome (CFS) is accompanied by a clinical improvement: effects of age, duration of illness and the translocation of LPS from gram-negative bacteria. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 29 (6): 902-910.
- [34] Martino, R., Martinez, C., Pericas, R., Salazar, R., Sola, C. & Brunet, S. (1996) Bacteremia due to glucose non-fermenting gram-negative bacilli in patients with hematological neoplasias and solid tumors. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15: 610-615.
- [35] Migula, W. (1895) *Bacteriaceae* (Stäbchenbakterien), in: A. Engler und K. Prantl (Hrsg.) Die natürlichen Pflanzenfamilien. W. Engelmann, Leipzig, Teil I, Abteilung Ia, pp. 1-44.
- [36] Moore, E. R. B., Tindall, B. J., Martins dos Santos, V. A. P., Pieper, D. H., Ramos, J.-L. & Palleroni, N. J. (2006) Nonmedical: *Pseudomonas*, in: Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes*, Vol. 6. Springer, New York, pp. 646-703.
- [37] Nelson, K. E., Weinel, C., Paulsen, I. T., Dodson, R. J., Hilbert, H., Martins dos Santos, V. A., Fouts, D. E., Gill, S. R., Pop, M., Holmes, M., Brinkac, L., Beanan, M., DeBoy, R. T., Daugherty, S., Kolonay, J., Madupu, R., Nelson, W., White, O., Peterson, J., Khouri, H., Hance, I., Chris Lee, P., Holtzapple, E., Scanlan, D., Tran, K., Moazzez, A., Utterback, T., Rizzo, M., Lee, K., Kosack, D., Moestl, D., Wedler, H., Lauber, J., Stjepandic, D., Hoheisel, J., Straetz, M., Heim, S., Kiewitz, C., Eisen, J., Timmis, K. N., Dusterhöft, A., Tümmler, B. & Fraser, C. M. (2002) Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. *Environm. Microbiol.* 4 (12): 799-808.
- [38] Neulier, C., Breton, N., Pangon, G., Le Monnier, A., Henry-Lagarrique, M., Dujon, C. & Merrer, J. (2011) Pseudo-outbreak of *Pseudomonas putida* respiratory infection caused by laboratory contamination. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 32 (5): 523-525.
- [39] Ohman, D. E., Mathee, K., McPherson, C. J., DeVries, C. A., Ma, S., Wozniak, D. J. & Franklin, M. J. (1996) Regulation of the alginate (*algD*) operon in *Pseudomonas aeruginosa*, in: Nakazawa, T., Furukawa, K., Haas, D. & Silver, S. (Eds.), *Molecular Biology of Pseudomonads*. ASM Press, Washington, DC, pp. 472-483.
- [40] Palleroni, N. J. (1984) Genus I. *Pseudomonas*, in: Krieg, N. R. & Holt, J. G. (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, MD, pp. 141-199.
- [41] Palleroni, N.J. & Doudoroff, M. (1972) Some properties and taxonomic subdivisions of the genus *Pseudomonas*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10: 73-100.
- [42] Perz, J. F., Craig, A. S., Stratton, C. W., Bodner, S. J., Phillips, W. E. & Schaffner, W. (2005) *Pseudomonas putida* septicemia in a special care nursery due to contaminated flush solutions prepared in a hospital pharmacy. *J. Clin. Microbiol.* 43: 5316-5318.
- [43] Pliego, C., Cazorla, F. M., González-Sánchez, M. A., Pérez-Jiménez, R. M., de Vicente, A. & Ramos, C. (2007) Selection for biocontrol bacteria antagonistic toward *Rosellinia necatrix* by enrichment of competitive avocado root tip colonizers. *Res. Microbiol.* 158 (5): 463-470.
- [44] Sauer, K. & Camper, A. K. (2001) Characterization of phenotypic changes of *Pseudomonas putida* in response to surface-associated growth. *J. Bacteriol.* 183: 6579-6589.
- [45] Smolowitz, R., Wadman, E. & Chikarmane, H. M. (1998) *Pseudomonas putida* infections of the oyster toadfish (*Opsanus tau*). *Biol. Bull.* 195: 229-231.
- [46] Spelman, D. W., Russo, P., Harrington, G., Davis, B. B., Rabinov, M., Smith, J. A., et al. (2000) Risk factors for surgical wound infection and bacteraemia following coronary artery bypass surgery. *Aust. NZ J. Surg.* 70: 47-51.
- [47] Szeto, C. C., Chow, K. M., Leung, C. B., Wong, T. Y., Wu, A. K., Wang, A. Y., et al. (2001) Clinical course of peritonitis due to *Pseudomonas* species complicating peritoneal dialysis: a review of 104 cases. *Kidney Int.* 59: 2309-2315.

- [48] Taneja, N., Meharwal, S. K., Sharma, S. K. & Sharma, M. (2004) Significance and characterization of pseudomonads from urinary tract specimens. *J. Commun. Dis.* 36 (1): 27-34.
- [49] Taylor, E., Keane, C. T. & Falkiner, F. R. (1984) *Pseudomonas putida* in transfused blood. *Lancet* 2: 107.
- [50] Torii, K., Noda, Y., Miyazaki, Y. & Ohta, M. (2003) An unusual outbreak of infusion-related bacteremia in a gastrointestinal disease ward. *Jpn. Infect. Dis.* 56: 177-178.
- [51] Toru, S., Maruyama, T., Hori, T., Gocho, N. & Kobayashi, T. (2008) *Pseudomonas putida* meningitis in a healthy adult. *J. Neurol.* 255: 1605-1606.
- [52] Trevino, M., Moldes, L., Hernandez, M., Martinez-Lamas, L., Garcia-Riestra, C. & Regueiro, B. J. (2010) Nosocomial infection by VIM-2 metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas putida*. *J. Med. Microbiol.* 59: 853-855.
- [53] Trevisan, V. (1889) I Generi e le Specie delle Batteriacee. Zanaboni and Gabuzzi, Milano.
- [54] Van Wees, S. C., Pieterse, C. M., Trijssenaar, A., Van 't Westende, Y. A., Hartog, F. & Van Loon, L. C. (1997) Differential induction of systemic resistance in *Arabidopsis* by biocontrol bacteria. *Mol. Plant Microbe Interact.* 10 (6): 716-724.
- [55] Weng, L. C., Liaw, G. J., Wang, N. Y., Lee, C. M., Huang, F. Y., et al. (1999) Investigation of an outbreak of *Pseudomonas putida* using antimicrobial susceptibility patterns, pulsed-field gel electrophoresis of genomic DNA and restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified rRNA operons. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 32: 187-193.
- [56] Winkle, S. (1979) Mikrobiologische und Serologische Diagnostik, 3. Auflage. G. Fischer-Verlag, Stuttgart-New York.
- [57] Yamamoto, S. & Harayama, S. (1998) Phylogenetic relationships of *Pseudomonas putida* strains deduced from the nucleotide sequences of *gyrB*, *rpoD* and 16S rRNA genes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48 (3): 813-819.
- [58] Yang, C. H., Young, T., Peng, M. Y. & Weng, M. C. (1996) Clinical spectrum of *Pseudomonas putida* infection. *J. Formos. Med. Assoc.* 95 (10): 754-761.
- [59] Yin-Cheng, L., Chao-Kung, L., Ko-Hua, C. & Wen-Ming, H. (2006) Daytime orthokeratology associated with infectious keratitis by multiple Gram-negative bacilli: *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas putida*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Eye Contact Lens* 32: 19-20.
- [60] Yoshino, Y., Kitazawa, T., Kamimura, M., Tatsuno, K., Ota, Y. & Yotsuyanagi, H. (2011) *Pseudomonas putida* bacteremia in adult patients: five case reports and a review of the literature. *J. Infect. Chemother.* 17: 278-282.
- [61] Zafar, A. B. (1998) Pseudo-epidemic in an acute-care teaching hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 19: 739-740.

Das Dossier wurde im Rahmen des Kooperationsmodells von der Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie (BG RCI) erstellt. Es repräsentiert den Stand von Wissenschaft und Technik, der federführend von Herrn Professor K. P. Schaal, Universität Bonn, zusammengestellt wurde.