

Advies betreffende: **Onderzoek naar de structuur van het type III secretie eiwitcomplex van *Shigella flexnerii***

Kennisgever: **Rijksuniversiteit Groningen**

COGEM kenmerk
CGM/021017-07

BGGO nummer
GGO 02-196

Datum advies
17 oktober 2002

Inleiding

Het doel van de kennisgeving is het zuiveren van het type III secretie eiwitcomplex van *Shigella flexnerii* ten behoeve van biochemische analyses. *S. flexnerii* is een gramnegatieve, onbeweeglijke, toxine-producerende micro-organisme van pathogeniteitsklasse 2 dat dysenterie (bloeddiarree) in mensen veroorzaakt door invasie van darmepitheelcellen. De infectie begint acuut met koorts en buikkrampen, gevolgd door frequente waterdunne diarree. Na deze zogenaamde 'dunne darmfase' van enkele dagen, volgt de 'dikke darmfase' met slijmerige diarree, vaak met bloed. De besmettelijkheid is groot aangezien de minimale infectieuze dosis slechts 100-200 bacteriën bedraagt. De bron van besmetting is uiteindelijk altijd de mens, maar kan verlopen via bijvoorbeeld voedsel of water dat door een geïnfecteerd persoon is besmet of via voorwerpen. Verspreiding wordt in het algemeen bevorderd door armoede en slechte hygiëne.

Bij de invasie van darmepitheelcellen is het type III secretie eiwitcomplex betrokken dat in de celmembraan van *S. flexnerii* aanwezig is en zorgt voor de export van een aantal eiwitten die de darmepitheelcel infecteren. Inzicht in het functioneren van dit eiwitcomplex kan bijdragen aan de behandeling en voorkoming van dysenterie. Voor het onderzoek hoeft niet met wild type *S. flexnerii* gewerkt te worden. Het eiwitcomplex zal worden gezuiverd uit opgekweekte *S. flexnerii* cellen van een bestaande mutant. In deze mutant (SF621) is het ipaC gen verwijderd en deels vervangen door het aphA-3 gen (kanamycine resistentie). Er wordt dus geen IpaC eiwit meer geproduceerd waardoor de mutant niet in staat is gastheer epitheelcellen binnen te dringen, niet-cytotoxisch is voor macrofagen, niet-hemolytisch is na contact met rode bloedlichamen, en geen virulentieverschijnselen veroorzaakt bij dierproeven met Guinesche biggen (1-4). De COGEM is om advies gevraagd omdat de aanvrager verzoekt om een verlaagde inschaling van de werkzaamheden op VMT niveau.

Overweging en Advies

In de literatuur zijn weinig dierproeven met *S. flexnerii* beschreven. Tevens is het niet bekend in welke mate dierproeven representatief zijn voor het ziekteverloop bij mensen. Enkel klinische proeven kunnen hierover uitsluitsel geven. Voor de virulentie en pathogeniteit van *S. flexnerii* is het essentieel dat *S. flexnerii* darmepitheelcellen kan

penetren. Hiertoe is de aanwezigheid van het IpaC eiwit essentieel. Aangezien de gebruikte mutant van *S. flexnerii* dit eiwit mist, heeft de bacterie het vermogen om epitheelcellen binnen te dringen verloren (1-4). De COGEM is van mening dat de aanvrager voldoende heeft aangetoond dat een IpaC mutant van *S. flexnerii* het vermogen tot virulentie heeft verloren. Het is derhalve aannemelijk dat deze mutant geen risico zal vormen voor mens en milieu. Uitgaande van de in vitro data en dierproeven is de COGEM van mening dat deze *S. flexnerii* mutant als een klasse 1 micro-organisme (niet-pathogeen) kan worden aangemerkt. Dit betekent dat handelingen met de IpaC mutant van *S. flexnerii* op VMT niveau kunnen plaatsvinden conform de voorgestelde inschaling van Bureau GGO. De COGEM acht het noodzakelijk om regelmatig te controleren of de juiste stam van *S. flexnerii* gebruikt wordt.

1. Barzu, S., Benjelloun-Touimi, Z., Phalipon, A., Sansonetti, P., and Parsot, C. (97). *Infect Immun* 65, blz. 1599-605
2. Kuwae, A., Yoshida, S., Tamano, K., Mimuro, H., Suzuki, T., and Sasakawa, C. (2001). *J Biol Chem* 276, blz. 32230-9
3. Menard, R., Sansonetti, P. J., and Parsot, C. (93). *J Bacteriol* 175, blz. 5899-906
4. Zychlinsky, A., Kenny, B., Menard, R., Prevost, M. C., Holland, I. B., and Sansonetti, P. J. (94). *Mol Microbiol* 11, blz. 619-27