



Stehendes Wasser ist eine Brutstätte für Ägyptische Tigermücken, die Hauptüberträger der Dengue in Brasilien.

## BRASILIENS HIGHTECH-MÜCKEN. TEIL 1

# Mit Bakterien gegen Dengue

Milliarden künstlich infizierter Mücken sollen Krankheitsüberträger verdrängen

NORBERT SUCHANEK, RIO DE JANEIRO

**B**rasilien im Dengue-Fieber. Das größte Land Lateinamerikas bekommt die Ausbreitung seines Hauptüberträgers, der Ägyptischen Tigermücke (*Aedes aegypti*) in den Städten nicht in den Griff. Im vergangenen Jahr starben in Brasilien 1016 Menschen an dem durch die Stechmücke übertragenen Arbovirus. Rund 400 Prozent mehr als 2021. Ein trauriger Rekord, der den bisherigen Höchstwert von 986 Todesfällen im Jahr 2015 übertrifft. Die WHO beziffert die Dengue-Todesfälle in Brasilien im ersten Halbjahr 2023 auf 769, die der bestätigten Infektionen auf über eine Million. Eine deutliche Zunahme gab es auch bei den ebenfalls durch *Aedes aegypti* übertragenen Chikungunya und Zika, die gleichermaßen zu den Arboviren zählen – was bedeutet, dass sie von blutsaugenden Gliederfüßern wie Mücken, Fliegen oder Zecken übertragen werden.

Statt die Ausbreitung der in Brasilien nicht heimischen, sondern aus Afrika in die Städte eingeschleppten Tigermücke durch konsequente Beseitigung der Brutstätten – wie Pfützen in löchrigen Straßen, verfallenen Häusern, auf offenen Abfalldeponien oder schlicht im Müll an den Straßenrändern – zu verhindern, setzen die brasilianischen Behörden seit 2011 auf Freilandversuche mit neuen Risikotechnologien. Nun sollen diese in großem Stil zum Einsatz kommen.

### Massenproduktion von Labormücken

Vergangenen März beschloss die Stiftung Oswaldo Cruz (Fiocruz) zusammen mit Brasiliens Gesundheitsministerium und dem von der Bill & Melinda Gates Stiftung mitfinanzierten World Mosquito Program (WMP) den Bau einer »Biofabrik« zur Massenproduktion von Ägyptischen Tigermücken, die künstlich mit einem Stamm des Bakteriums *Wolbachia* infiziert wurden. Ab 2024 soll die rund 20 Millionen Euro teure Fabrik pro Woche 100 Millionen dieser »Wolbitos« genannten Labormücken produzieren, um sie großflächig in Brasilien freizulassen – rund fünf Milliarden Stechmücken pro Jahr. Mit weiteren etwa 16 Millionen Euro sollen die bestehenden Mückenproduktionskapazitäten ausgeweitet werden, um so rasch wie möglich mit der Ausbreitung der Wolbitos in von Dengue besonders betroffenen Orten zu beginnen.

»Es wird die größte Anlage der Welt sein, um mit *Wolbachia* infizierte Mücken zu produzieren«, schwärmte der australische Forscher und WMP-Direktor Scott O'Neill, dessen Lebenswerk in Erfüllung zu gehen scheint, während der Projektpräsentation in Brasilia. Das Land könnte damit ein Modell für die Ausweitung der *Wolbachia*-Methode auf alle anderen 129 von Denguefieber betroffenen Länder der Welt werden.

O'Neill forscht bereits seit mehr als 20 Jahren an der Idee, mit *Wolbachia* die Ausbreitung von Dengue zu bekämpfen. Das 1924 von dem US-amerikanischen Entomologen

Marshall Hertig und dem Pathologen Simeon Burt Wolbach entdeckte intrazelluläre Bakterium kommt natürlicherweise in etwa 40 Prozent der Arthropodenarten (Gliederfüßer) und geschätzt in mehr als 60 Prozent der bekannten Insektenarten vor. Dazu gehören auch die mit dem Menschen in Wechselwirkung stehenden Blutsauger wie Bettwanzen und Stechmücken. Von den mehr als 3500 bis heute beschriebenen stechenden Mückenarten untersuchten die Forscher bisher 217 auf das Vorhandensein von *Wolbachia*-Stämmen und wiesen sie in 66 Arten nach. So kommen die Bakterien zwar auch in der Dengue verbreitenden Asiatischen Tigermücke (*Aedes albopictus*), nicht aber in *Aedes aegypti* vor.

Die unterschiedlichen endosymbiotischen, das heißt innerhalb des Wirtsorganismus lebenden, *Wolbachia*-Stämme, die in der Regel mütterlicherseits über die Eier auf die nächste Generation übertragen werden, können ihre Wirte auf verschiedenste Art und Weise manipulieren. So können sie das Fortpflanzungssystem der infizierten Insekten verändern oder die Reproduktion und Verbreitung von bestimmten Virenarten beeinträchtigen. Und genau dies wollte sich O'Neill zunutze machen.

Gemeinsam mit dem brasilianischen Fiocruz-Wissenschaftler Luciano Moreira konnte er an der Universität von Queensland in Australien 2011 nachweisen, dass ein in *Aedes aegypti* eingebrachter *Wolbachia*-Stamm die Vermehrung von Arboviren wie Dengue in der Mücke blockieren und damit auch deren Übertragung auf den Menschen durch einen Mückenstich behindern kann.

Der schwierigste Teil der Forschung war dabei der Transfer des Bakteriums in die Ägyptische Mücke. Da diese sich nicht natürlich mit *Wolbachia* infiziert, müssen die Bakterien mittels einer hauchdünnen Glasnadel in ein Mückenei von der Größe eines Mohnsamens gespritzt werden. Dabei darf das Ei nicht mehr als eine Stunde alt sein und noch keine Zellen gebildet haben. Die Forscher benötigten Tausende von Versuchen, bis schließlich erfolgreich ein mit einem bestimmten *Wolbachia*-Stamm infizierter Ägyptischer Tigermückenstamm erzeugt werden konnte.

### Mückenpopulation soll ersetzt werden

Ausdrücklich betonen die Wissenschaftler, dass es sich dabei um eine künstliche Einbringung von *Wolbachia* in den Mückenorganismus handelt und nicht um eine genetische Veränderung des Erbguts, weder bei *Aedes aegypti* noch beim Bakterium. Das Ziel bestehe auch nicht darin, die eingeschleppte Ägyptische Tigermücke aus der Umwelt Brasiliens zu eliminieren, sondern darin, die Arboviren übertragende Mückenpopulation durch eine zu ersetzen, die dank *Wolbachia* dazu nicht mehr oder in geringerem Maße in der Lage ist.

Dazu tragen zwei Effekte bei: Erstens entsteht bei der Paarung nichtinfizierter Tigermückenweibchen mit freigesetzten *Wolbachia*-infizierten Männchen keine Nachkommenschaft, ein Phänomen, das auf der so-

genannten, durch das Bakterium hervorgerufenen »Zytoplasmatischen Inkompatibilität« beruht. Zweitens produzieren die aus dem Labor freigesetzten Weibchen ausschließlich mit *Wolbachia* infizierte Nachkommen.

Da also die Befruchtung »wilder« nicht-infizierter Weibchen durch freigesetzte *Wolbachia*-Männchen ergebnislos bleibt, führt nur die Befruchtung freigesetzter infizierter Weibchen zu einer Nachkommenschaft, die wiederum mit *Wolbachia* infiziert ist. Auf diese Weise, so hoffen die Forscher, werde mit der Zeit die »natürliche« Population gänzlich durch *Wolbitos* ersetzt, was als »Mückenersatzstrategie« bezeichnet wird.

Die ersten Freisetzen von rund 300 000 mit *Wolbachia* künstlich infizierten Mücken fanden 2011 im nordaustralischen Cairns statt. Seitdem gab es Freilandversuche in zwölf Ländern. In Brasilien starteten die Forscher des World Mosquito Program und von Fiocruz erstmals 2014 in Rio de Janeiro Feldversuche. Mehr als 100 000 aus Australien importierte *Wolbitos* wurden im Viertel Tubiacanga auf der Ilha do Governador freigelassen. Es folgten Freisetzen in Rios Nachbarstadt Niterói sowie in den Bundesstaaten Mato Grosso do Sul (Campo Grande), Minas Gerais (Belo Horizonte) und Pernambuco (Petrópolis). Bei einem zweiten groß angelegten Freisetzungsexperiment in Rio de Janeiro entließen die Forscher zwischen 2017 und 2019 in fünf unterschiedlichen Zonen 67 Millionen *Wolbitos*.

Laut ersten Studien habe sich, so das WMP, die *Wolbachia*-Methode klar als wirksam erwiesen. So sei in Cairns die Zahl der gemeldeten Dengue-Fälle um 93 Prozent zurückgegangen und in Yogyakarta in Indonesien um 77 Prozent. In den Freisetzungszonen von Niterói stellten Fiocruz und das WMP eine Verringerung der Dengue-Fälle um rund 70 Prozent, der Chikungunya-Fälle um 56 Prozent und der Zika-Fälle um 37 Prozent fest.

Weniger erfolgreich waren allerdings die Großversuche in Rio de Janeiro, wo sich die *Wolbitos* nicht wie erwartet durchsetzen konnten. Eine von der Bill & Melinda Gates Stiftung und dem Europäischen Forschungsrat finanzierte Folgestudie kam zum Ergebnis, dass die Freisetzen in Rio mit einer Verringerung der registrierten Dengue-Erkrankungen um 38 Prozent und einer Verringerung der Chikungunya-Fälle um zehn Prozent verbunden waren.

### Methode ohne Nebenwirkungen?

Das offensichtlichste Problem der Freisetzung von *Wolbitos* ist, dass die lokale menschliche Bevölkerung über einen längeren Zeitraum einer vermehrten Stechmückenplage ausgesetzt ist und Hunderttausende bis Millionen von Labormücken zusätzlich zu ihren natürlichen Verwandten auf der Suche nach Blut sind. Wobei lediglich die Weibchen unter den Stechmücken Blut saugen, da sie es zur Eiproduktion benötigen.

Was die Langzeitfolgen betrifft, so halten die WMP-Forscher ihre *Wolbachia*-Methode für Menschen, Tiere und Umwelt für sicher.

Mit der Freisetzung ihrer Mücken sei nur ein zu vernachlässigendes Risiko verbunden.

In einer von Scott O'Neill und seinem Forscherteam 2010 durchgeführten Risikoanalyse heißt es: »Menschen sind *Wolbachia* seit Tausenden von Jahren ausgesetzt.« Es gebe keine Hinweise auf eine Gefahr durch *Wolbachia* für die menschliche Gesundheit oder die Umwelt. Das intrazelluläre Bakterium könne weder Menschen noch Haustiere infizieren, auch nicht durch einen Mückenstich.

Dies zeigte zudem eine Untersuchung mit freiwilligen Mitarbeitern des Forschungsprojekts in Australien. Diese hatten über einen Zeitraum von drei Jahren *Wolbitos*-Mücken an sich saugen lassen und in keinem Fall wurde *Wolbachia* übertragen. Laborexperimente ergaben auch, dass das Bakterium zu groß ist, um über den Speichelgang der Mücken in den menschlichen Blutkreislauf zu gelangen. Vernachlässigbar sei auch das Risiko, dass die eingeschleusten *Wolbachia*-Bakterien auf andere Organismen übertragen werden oder sich im Boden durch verstorbene Mücken etablieren könnten. »Viele Fragen im Zusammenhang mit Langzeitfolgen können aber erst nach erfolgter Freisetzung beurteilt werden«, so Scott O'Neill und sein Team.

### Schnelle Mutation von RNA-Viren

Die Forscher James J. Bull und Michael Turilli von der University of Texas kamen 2013 in ihrer Risikobewertung der Freisetzungversuche zum Schluss, dass evolutionäre Konsequenzen sich nicht sicher vorhersagen lassen. So könnten die in die Ägyptischen Tigermücken eingeschleusten *Wolbachia*-Stämme ihre das Virus blockierende Wirkung durch die Evolution verlieren. Umgekehrt bestehe auch die Möglichkeit, dass sich die Arboviren weiterentwickeln und die *Wolbachia*-Blockade überwinden. Dies könnte bereits in einem Zeitraum von zehn Jahren passieren. In einer weiteren Risikobewertung aus dem Jahr 2021 der Monash University in Australien schreiben die Autoren: »Die schnelle Mutationsrate von RNA-Viren legt nahe, dass es unvermeidlich ist, dass sich Dengue-Viren irgendwann an den Selektionsdruck von *Wolbachia* anpassen und gegen den Eingriff resistent werden. Die Frage ist, wie lange wird das dauern?«

Ähnlich sieht dies der brasilianische Biologe Rafael Maciel de Freitas, der sowohl für Fiocruz als auch am Bernhard-Nocht-Institut für Tropenmedizin arbeitet. Früher oder später, so der Biologe, könnte das Dengue-Virus wahrscheinlich einen Weg finden, den *Wolbachia*-Effekt in den Ägyptischen Tigermücken zu überwinden.

Eine weitere Sorge der Wissenschaftler der University of Texas ist, dass die künstliche Einbringung von *Wolbachia* zu noch gefährlicheren und ansteckenderen Viren führen könnte. Zwar gebe es für eine solche Vorhersage keine Grundlage, ebenso wenig gebe es aber Beweise dafür, dass dies nicht geschehen könnte. Eines allerdings steht fest: Ist *Wolbachia* einmal in eine Wildpopulation von Stechmücken eingebracht, so ist dies irreversibel.

»Es wird die größte Anlage der Welt sein, um mit *Wolbachia* infizierte Mücken zu produzieren.«

Scott O'Neill World Mosquito Program



Freisetzung gentechnisch veränderter Mücken von Oxitec im Jahr 2016 in Piracicaba im brasilianischen Bundesstaat São Paulo

## BRASILIENS HIGHTECH-MÜCKEN. TEIL 2

# Die Guten aus dem Genlabor

Brasilien ist das erste Land, das gentechnisch veränderte Oxitec-Stechmücken ohne Beschränkungen freilässt

NORBERT SUCHANEK, RIO DE JANEIRO

Unsere Mücken stechen nicht! Genau wie die in der Umwelt vorkommenden männlichen *Aedes aegypti*-Mücken stechen die *Aedes do Bem*™ nicht und übertragen daher keine Krankheiten. Perfekt für Mensch, Umwelt und Ihre Haustiere! Eine innovative, sichere und hochwirksame Lösung zur Bekämpfung von *Aedes aegypti*. So preist die Firma Oxitec auf ihrer Verkaufswebsite ihre »guten *Aedes*-Mücken« für jedermann und für nur 199 Reais, rund 40 Euro an. Das Wort »Gentechnik« sucht man dabei vergebens in der Produktbeschreibung und doch stammt »*Aedes do Bem*™« aus dem Genlabor.

Gänzlich ohne öffentliche Debatte hatte im vergangenen März die neue brasilianische Regierung den freien Verkauf der gentechnisch veränderten Oxitec-Stechmücken des Typs OX5034 erlaubt. Seitdem können die Gentech-Insekten von jedem, egal ob Unternehmen oder Privatperson, gekauft und in dem größten Land Südamerikas ganz nach Belieben freigesetzt werden. Ziel ist die lokale Ausrottung oder zumindest eine deutliche Verringerung der aus Afrika eingeschleppten Ägyptischen Tigermücke (*Aedes aegypti*) und damit ein Rückgang der von ihr übertragenen Viruskrankheiten wie Dengue, Gelbfieber, Zika und Chikungunya.

Laut Oxitec gehören bereits mehrere Großfirmen in Brasilien wie Petrobras und Siemens Energy zu ihren Kunden. Auch Lateinamerikas größter Fernsehsender O Globo bekämpft die Tigermücke aus Afrika in seinen Studios in São Paulo und Rio de Janeiro inzwischen mit der »guten Mücke« aus dem Genlabor.

### Zusammenspiel mit Antibiotikum

Die patentierten Gentech-Mücken des ursprünglich an der Universität Oxford gegründeten und 2015 an den US-Gentechnikkonzern Intrexon Corporation verkauften Unternehmens Oxitec sind mit zwei zusätzlichen Genen ausgestattet: dem DsRed2-Markergen, das ein rot fluoreszierendes Protein herstellt, um die freigesetzten Labormücken von der natürlichen Population zu unterscheiden. Das zweite artfremde Gen ist der sogenannte Tetrazyklin-Transaktivator (tTAV), der den Tod der weiblichen Tiere noch im Larvenstadium programmiert.

Das tTAV-Gen basiert auf DNA-Sequenzen des Bakteriums *Escherichia coli* und des Herpes-simplex-Virus. Die damit genetisch mani-

pulierten weiblichen Moskitolarven können sich nur im Beisein des Antibiotikums Tetrazyklin im Wasser entwickeln.

Die gleichfalls genmanipulierten Männchen hingegen überleben auch ohne Tetrazyklin und können das »Todesgen« über den Geschlechtsverkehr auf die wilde Mückenpopulation übertragen. Freigelassen sollen sie sich in Konkurrenz mit ihren natürlichen Artgenossen mit den Weibchen paaren und damit nur noch männliche Nachkommen produzieren, weil die zur Larvenentwicklung notwendigen Pflützen oder stehenden Gewässer in der Umwelt normalerweise frei von Tetrazyklin-Antibiotika sind. Das genmanipulierte OX5034-Genom wird dabei nach den Mendelschen Regeln an die Hälfte der männlichen Nachkommen vererbt, womit im Idealfall kontinuierlich die *Aedes-aegypti*-Population reduziert wird, bis sie schließlich inklusive der »guten Mückenmännchen« lokal gänzlich verschwunden ist.

Doch was ist, wenn Tetrazyklin doch stärker in der Umwelt und damit in Gewässern verbreitet ist als angenommen oder erhofft? Tatsächlich ist Tetrazyklin ein gerade auch in Brasilien häufig sowohl in der menschlichen als auch in der Veterinärmedizin sowie in der Massentierhaltung eingesetztes Breitbandantibiotikum. Außerdem wird es in der Garnelenzucht und im Obstbau angewendet. Schon lange ist darüber hinaus bekannt, dass Antibiotika von Mensch und Tier unverdaut ausgeschieden werden und so Boden und Wasser kontaminieren können. Für einige Forscher ist genau dies ein kritischer Punkt dieser von Oxitec verwendeten gentechnischen Methode.

### Beschränkte Freisetzung in den USA

So ist auch nach Meinung der Umweltschutzbehörde EPA in den gleichfalls unter der Ägyptischen Tigermücke leidenden USA das Risiko des Überlebens und damit der Fortpflanzung von gentechnisch manipulierten OX5034-Weibchen aufgrund von Tetrazyklinen in der Umwelt zwar klein, aber nicht auszuschließen. Deshalb hat sie Versuchsfreisetzungen von Oxitec in Florida nur in Gebieten fern von möglichen Quellen des Antibiotikums erlaubt. In ihrer Risikobewertung aus dem vergangenen Jahr heißt es: »Die EPA kommt zum Schluss, dass die Genehmigung zur experimentellen Freisetzung von männlichen OX5034-Mücken keine unzumutbaren schädlichen Auswirkungen auf den Menschen haben wird, sofern solche Freisetzungen nicht innerhalb von 500 Metern von Abwasseraufbereitungs-

anlagen, kommerziellen Anbauflächen von Zitrusfrüchten, Äpfeln, Birnen, Nektarinen und Pfirsichen sowie von kommerziellen Rinder-, Geflügel- und Schweinehaltungsbetrieben stattfinden.«

In Brasilien hingegen gibt es eine solche Beschränkung nicht. Die Genehmigungsbehörde, die Technische Kommission für Biosicherheit (CTNBio), gab den OX5034-Mücken uneingeschränkt grünes Licht. Die Kommission habe damit das Vorsorgeprinzip nicht berücksichtigt, kritisiert der brasilianische Biologe José Maria Gusman Ferraz, der ehemals Mitglied der Biosicherheitskommission war. »Wir haben eine Technologie freigesetzt, die zu einer Veränderung der Umwelt führen kann«, zitiert ihn das brasilianische Wissenschaftsmagazin »Pesquisa FAPESP«.

### Erste Feldversuche seit 2011

Das staatlich finanzierte Experiment unter freiem Himmel mit Gentech-Moskitos von Oxitec begann in Brasilien bereits 2011 im nordöstlichen Bundesstaat Bahia. Eingesetzt wurde OX513A, ein Vorläuferstamm von OX5034, bei dem auch die männlichen Nachkommen aufgrund von fehlendem oder mangelndem Tetrazyklin in der Umwelt absterben. Unter Aufsicht des Bundesgesundheitsministeriums und Beteiligung der Universität von São Paulo (USP) entließen die Forscher in den beiden rund 3000 Einwohner zählenden Vierteln Itaberaba und Mandacaru der Stadt Juazeiro am Rio São Francisco im Norden von Bahia sechs Monate lang mehr als 500 000 OX513A-Männchen pro Woche.

2013 wurde das Experiment auf die Stadt Jacobina im Landesinneren von Bahia mit rund 80 000 Einwohnern ausgeweitet. Es war der bis dahin weltweit größte Freisetzungsvorhaben mit OX513A. Über einen Zeitraum von 27 Monaten, zwischen Juni 2013 und September 2015, setzten die Forscher hier rund 50 Millionen transgene Mückenmännchen frei.

Laut Oxitec führten beide Feldversuche in Juazeiro und Jacobina zu einem Rückgang der Wildpopulation um mehr als 90 Prozent im Vergleich zu Kontrollgebieten. Doch bereits innerhalb eines Jahres nach der letzten Freilassung der »guten Mücken« hatte sich die natürliche Tigermückenpopulation wieder erholt. Um langfristig erfolgreich die Moskitos zu bekämpfen, sind also kontinuierliche Freisetzungen von OX513A-Mücken nötig.

Ein weiterer Kritikpunkt ist die von Oxitec und den beteiligten Forschern selten er-

wähnte Tatsache, dass sich unter den Millionen von freigelassenen, nicht blut saugenden männlichen Gentech-Mücken möglicherweise auch ein geringer Prozentsatz von Weibchen befand. Denn die Geschlechtertrennung der winzigen Insekten geschieht im Labor quasi von Hand. Hilfreich dabei ist, dass die Weibchen bereits im Puppenstadium in der Regel größer sind als die Männchen. Doch besonders kleine Weibchen bleiben unentdeckt. Oxitec schätzt, dass unter 3000 zur Freilassung selektierten Gentech-Mücken ein blutsaugendes OX513A-Weibchen ist. Die Weibchen seien aber klein und schwach, mit geringen Fortpflanzungschancen in der Umwelt.

### Genetische Veränderungen nachgewiesen

Globale Schlagzeilen machte der Jacobina-Feldversuch im Jahr 2019, als das Fachjournal »Nature Scientific Reports« die Studie eines zehnköpfigen amerikanisch-brasilianischen Forscherteams zu dessen Folgen veröffentlichte. Unter der Leitung des Genetikers Jeffrey Powell von der Universität von Yale begleitete das Team das Experiment in Bahia und untersuchte die in der Region vorkommenden Ägyptischen Tigermücken jeweils zwölf und 27 bis 30 Monate nach der Freisetzung auf genetische Veränderungen – und fand sie.

Zwischen 10 und 60 Prozent aller untersuchten Stechmücken von Jacobina trugen Gene der eingesetzten OX513A-Mücken in sich, die aus einer Kreuzung zweier *Aedes-aegypti*-Stämmen aus Kuba und Mexiko entwickelt wurden. Die neu entstandene Population trage nun die Gene der kubanischen, mexikanischen und brasilianischen Varianten in sich. Es sei unklar, wie sich dies auf die Übertragung von Krankheiten wie Dengue oder andere Bemühungen zur Bekämpfung dieser Stechmücken auswirken könnte, warnten die Forscher.

Die Schaffung von Hybriden »führe sehr wahrscheinlich zu einer robusteren Population als die Population vor der Freilassung«. Es sei noch unklar, welche Folgen die Übertragung des fremden Erbguts auf künftige Mückengenerationen habe, resümierte Studienleiter Powell. »Das Entscheidende ist, dass

Nachdem Oxitec die Studie in mehreren Punkten heftig kritisiert hatte, distanzieren sich sechs der brasilianischen Co-Autoren von ihr. Jeffrey Powell und seine Kollegen von der Yale University sowie der brasilianische Genetiker Aldo Malavasi indes blieben bei ihrer Bewertung.

»Wir haben eine Technologie freigesetzt, die zu einer Veränderung der Umwelt führen kann.«

José Maria Gusman Ferraz *Biologe*