



Aan de minister van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
Mevrouw dr. J.M. Cramer
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 02 juni 2008
KENMERK CGM/080602-03
ONDERWERP Bijlage 1 van de regeling ggo: classificatie van 14 bacteriën

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de classificatie van een veertiental micro-organismen deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de classificatie van een veertiental bacteriën. De vraag is of de bacteriën gehandhaafd kunnen blijven op Bijlage 1 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo). Bijlage 1 bestaat uit een lijst van micro-organismen die niet pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Met de micro-organismen die in Bijlage 1 zijn opgenomen, mag onder bepaalde voorwaarden op het laagste inperkingsniveau ML-I gewerkt worden. Bijlage 1 is gebaseerd op de lijst die door het Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie (IMMIP) in Bonn wordt bijgehouden. Er zijn echter inconsistenties tussen de huidige Bijlage 1 en de meest recente IMMIP lijst. Sommige micro-organismen staan op de huidige Bijlage 1, maar worden in de IMMIP lijst als mogelijk pathogeen aangemerkt (klasse 1+ of 2). De COGEM adviseert om de elf bacteriën die op de Duitse lijst als 1+ aangemerkt staan, op Bijlage 1 te handhaven. Deze organismen zijn naar de mening van de COGEM apathogeen.

De COGEM adviseert om de drie organismen die op de Duitse lijst als klasse 2 genoemd staan van Bijlage 1 te verwijderen. *Pseudomonas aeruginosa* kan vele verschillende organismen infecteren, en kan bij gezonde mensen infecties veroorzaken. *Stenotrophomonas maltophilia* en *Streptococcus mutans* kunnen ook gezonde personen infecteren. De COGEM adviseert daarom deze drie organismen in te schalen als een klasse 2 pathogeen.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

Dit advies is mede tot stand gekomen door de inbreng van Prof. dr. W.M. de Vos (Wageningen Universiteit) en Prof. dr. M. Kleerebezem (NIZO Research Centrum en Wageningen Universiteit).

Bijlage 1 van de regeling ggo: Classificatie van 14 bacteriën

COGEM advies CGM/080602-03

Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de handhaving dan wel verwijdering van enkele micro-organismen op Bijlage 1 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo) (1).

In de Regeling ggo worden micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door apathogene micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen.

Bijlage 1 is een lijst van micro-organismen die in principe niet pathogeen (apathogeen) zijn voor mens, dier of plant. Deze bijlage is voor vergunningaanvragers van belang omdat met deze micro-organismen onder bepaalde voorwaarden op het laagste inperkingsniveau, ML-I, gewerkt mag worden. Dit is toegestaan wanneer voor het vervaardigen van het ggo een veilig geachte vector gebruikt wordt en zich in deze vector geen insertie bevindt die een potentieel gevaar voor mens en milieu vormt (1). Voorbeelden van potentieel 'gevaarlijke' inserties zijn genen die coderen voor toxines, virulentie- of pathogeniteitsfactoren en virale en cellulaire oncogenen.

Organismen die op Bijlage 1 vermeld staan, voldoen in ieder geval aan één van de volgende criteria (1):

- 1) Het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant.
- 2) Het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen zijn getroffen.
- 3) Het micro-organisme behoort tot een soort die wel vertegenwoordigers bevat van klasse 2, 3 of 4, maar de stam in kwestie bevat geen genetisch materiaal dat verantwoordelijk is voor de virulentie.
- 4) Het niet-virulente karakter van het micro-organisme is door middel van adequate tests aangetoond.

In de huidige inschalingspraktijk wordt een micro-organisme als pathogeen gezien als deze bij immunocompetente mensen een ziekte kan veroorzaken. Opportunistische pathogenen, die een ziekte kunnen veroorzaken bij immunogecompromiteerde individuen, worden als niet pathogeen (apathogeen) beschouwd en kunnen op Bijlage 1 geplaatst worden.

Bijlage 1 is gebaseerd op een lijst die is samengesteld door de “Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie”. Deze zogenaamde ‘Duitse lijst’ wordt regelmatig herzien (2). Hierdoor zijn er in Bijlage 1 (nog) een aantal micro-organismen als apathogeen (klasse 1) aangemerkt, terwijl deze organismen bij een herziening van de Duitse lijst inmiddels als klasse 1+ of 2 worden aangemerkt. De 1(+) classificatie houdt in dat van deze micro-organismen gevallen bekend zijn, waarbij een ziekte is opgetreden. Doorgaans betreft het hier een infectie onder immuungecompromitteerde personen.

Adviesvraag

Eerder zijn een aantal micro-organismen die op de Duitse lijst tot klasse 1+ behoren en in Nederland vergund zijn op ML-I niveau reeds aan de COGEM voorgelegd. In haar advies over deze micro-organismen geeft de COGEM aan dat desbetreffende micro-organismen niet pathogeen zijn en op Bijlage 1 gehandhaafd kunnen blijven (3). Naast de vergunning van specifieke micro-organismen kent het Nederlandse vergunningensysteem ook een zogenoemde 1A vergunning waarbij alle micro-organismen die op Bijlage 1 vermeld staan onder bepaalde voorwaarden mogen worden gehanteerd op het laagste inperkingsniveau. Bureau GGO heeft vergunninghouders van deze vergunning verzocht aan te geven met welke organismen in hun instelling gewerkt wordt die op de huidige Bijlage 1 vermeld staan maar in de Duitse lijst als 1+ of 2 staan ingedeeld. Dit blijkt een veertiental organismen te zijn.

In onderliggend advies wordt deze groep van micro-organismen aan de COGEM ter beoordeling voorgelegd. Het betreft de bacteriën *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium animalis*, *Brevibacterium casei*, *Brevibacterium epidermidis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus johnsonii*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides* var. *dextranicum*, *Leuconostoc mesenteroides* var. *mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* en *Streptococcus mutans*

Overweging

In onderstaande overweging wordt voor elk micro-organisme uiteengezet of desbetreffend organisme volgens de COGEM op Bijlage 1 thuishoort. Opgemerkt moet worden dat opportunistische pathogenen als apathogeen beschouwd worden.

In de praktijk is het onderscheid tussen een pathogeen en een opportunistisch pathogeen niet scherp gedefinieerd. Een opportunistisch pathogeen kan een ziekte veroorzaken in personen met een verzwakt immuunsysteem. De vraag is echter wanneer er sprake is van een daadwerkelijk verzwakt immuunsysteem.

Wetenschappelijk gezien is de pathogeniteit van een micro-organisme goed aan te tonen. De afwezigheid van pathogeniteit is echter moeilijk te bewijzen. Daarbij worden vrijwel alle gevallen van pathogeniteit gepubliceerd, terwijl er nauwelijks wordt gerapporteerd over de apathogeniteit van micro-organismen. Hierdoor is er van veel bacteriën weinig literatuur over pathogeniteit voorhanden. Een lange historie van

veilig gebruik, waarbij geen nadelige effecten zijn gerapporteerd, vormt in dit opzicht een belangrijk referentiekader voor apathogeniteit. Als kanttekening moet hierbij opgemerkt worden dat effecten mogelijk moeilijk worden opgemerkt als zij niet erg uitgesproken van aard zijn en er niet gericht naar wordt gezocht. Anderzijds zijn veruit de meeste micro-organismen apathogeen. Daarom worden bij de afwezigheid van expliciete aanwijzingen voor pathogeniteit bij langdurig gebruik micro-organismen als apathogeen beschouwd.

Onderstaande overwegingen zijn gemaakt op basis van de literatuurgegevens én de inschattingen van (externe) experts.

1. De familie Bifidobacteriaceae

Bifidobacteriën behoren tot de familie van de *Bifidobacteriaceae* en zijn Gram-positieve anaerobe bacteriën. Ze komen van nature voor in de darmflora van mens en dier (4).

Bifidobacterium adolescentis en *Bifidobacterium animalis*

B. adolescentis is aangetroffen in feces van volwassen mensen, de humane vagina, rundermaag en riolering. *B. animalis* komt voor in feces van ratten, kippen, konijnen, kalveren en cavia's en in de riolering (4).

Bifidobacteriën kennen een historie van veilig gebruik en worden al jaren ingezet voor het fermenteren van voedsel. Voorbeelden zijn yoghurt, kaas, zuurkool en olijven (5). De European Food Safety Authority (EFSA) heeft de bacterie *B. animalis*, *B. longum*, *B. breve* en *B. bifidum* voorgedragen voor een zogenaamde 'Qualified Presumption of Safety' (QPS) status (6). De QPS status wordt verleend aan micro-organismen die veilig bevonden zijn voor gebruik in voedselproducten. Het is te vergelijken met de Amerikaanse GRAS (Generally Recognised As Safe) status (7). Zowel *B. adolescentis* als *B. animalis* bezitten beiden de GRAS status (8). De EFSA stelt dat andere bifidosoorten ook kunnen worden toegevoegd aan de lijst met uitzondering van de soort *B. dentium* waarvan bekend is dat deze tandbederf kan veroorzaken.

Aan bifidobacteriën wordt een positieve werking toegedicht als het gaat om het handhaven van het evenwicht in de darmflora. Dit is de reden dat deze groep van bacteriën vaak wordt ingezet als probiotica. De bacteriën zouden in deze toepassing een rol kunnen spelen in het verhelpen van diarree en darmontstekingen en het voorkomen van leverschade. Tevens zou de bacterie een positieve bijdrage kunnen leveren aan het voorkomen van darmkanker (9).

Uit de literatuur blijkt dat infectiegevallen met bifidobacteriën en lactobacillen zeer zeldzaam zijn. In het geval van endocarditis (ontsteking aan de binnenkant van het hart) of bacteremie (aanwezigheid van bacteriën in de bloedbaan) wordt in 0,05% tot 0,4% van de gevallen de oorzaak toegedicht aan een infectie met deze twee bacteriegroepen.

Immuungecompromitteerde patiënten zijn over het algemeen meer kwetsbaar voor een infectie en hebben een hogere kans op het krijgen van een opportunistische infectie. Recent is er een incident geweest waarbij patiënten met een acute alveesklierontsteking twee maal daags (10^{10} bacteriën / dag) gedurende maximaal 28 dagen probiotica toegediend kregen. Deze probiotica bestond uit een mix van *B. bifidum*, *B. lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei* en *L. salivarius*. Uit de resultaten kwam naar voren dat patiënten die de probiotica toegediend kregen een grotere kans hadden op het krijgen van infectieuze complicaties dan patiënten aan wie de probiotica niet verstrekt was (10). Echter verschillende andere klinische studies tonen aan dat de consumptie van probiotica die bifidobacteriën bevatten het risico op een opportunistische infectie bij immuungecompromitteerde patiënten niet vergroten (5).

Gezien het algemeen voorkomen van deze bacteriën in de mens, het feit dat er slechts sporadisch infecties zijn aangetroffen bij immuungecompromitteerden waarbij bifidobacteriën langdurig en in hoge concentraties aan de patiënt zijn toegediend en het jarenlange veilige gebruik van de bacterie in voedselbereiding, is de COGEM van mening dat zowel *B. adolescentis* als *B. animalis* beschouwd moeten worden als apathogeen.

2. De familie Brevibacteriaceae

Brevibacteriën behoren tot de familie van de *Brevibacteriaceae* en zijn Gram-positieve aerobe bacteriën. Ze komen veelvuldig voor in zuivelproducten.

Brevibacterium casei en *Brevibacterium epidermidis*

B. casei is geïsoleerd uit rauwe melk, wrongel en cheddar. Daarnaast is *B. casei* ook geïsoleerd uit klinische monsters en komt de bacterie voor op humane huid. De natuurlijke habitat is echter onbekend (11). *B. epidermidis* komt voor in de natuurlijke bacteriepopulatie op de humane huid (11).

Brevibacteriën kennen een lange historie van veilig gebruik. Ze worden toegepast in zuivelproducten voor het verkrijgen van aroma en kleur van specifieke kazen zoals de Appenzeller en Gruyère. De EFSA heeft daarom de bacterie *B. casei*, *B. linens* en *B. iodinum* voorgedragen voor een QPS status (6).

Lange tijd werd verondersteld dat brevibacteriën geen humane infecties konden veroorzaken. In de jaren negentig zijn toch enkele rapporten verschenen waarin melding werd gemaakt van infecties veroorzaakt door de bacterie bij immuungecompromitteerde patiënten (12,13). Het betrof hier ontstekingen aan het beenmerg, buikvliesontsteking en bloedvergiftiging. De meeste van deze infecties werden veroorzaakt door *B. casei*. Er is één geval gerapporteerd van een infectie bij een katheter met *B. epidermidis* waardoor bloedvergiftiging is opgetreden. Behandeling met antibiotica was effectief en de patiënt herstelde snel (14).

Gezien het feit dat slechts sporadisch infecties bij immuungecompromitteerden zijn aangetroffen en het jarenlange veilige gebruik van de bacterie in voedselbereiding, is de COGEM van mening dat zowel *B. epidermis* als *B. casei* als apathogeen moeten worden aangemerkt.

3. Het genus *Lactobacillus*

Lactobacillen zijn Gram-positieve, anaerobe bacteriën die tot de groep van melkzuurbacteriën behoren. Lactobacillen komen veelvuldig voor op voedsel en worden snel na de geboorte aangetroffen in het maag-darmkanaal. Ze maken een belangrijk deel uit van de darmflora. In gezonde mensen komen lactobacillen voor in de mondholte, een deel van de dunne darm, de dikke darm en de vagina. Daarnaast komen lactobacillen voor in rottend plant- of dierlijk materiaal. Lactobacillen spelen een belangrijke rol in de productie van gefermenteerd voedsel, zoals kaas, yoghurt, wijn en zuurkool.

Naast het gebruik van Lactobacillen in voedsel fermentatie worden deze bacteriën ook veelvuldig toegepast als probiotica. Er zijn in klinische studies naar het gebruik van probiotica, *Lactobacillus* stammen toegediend aan vroeg geboren baby's, zuigelingen, kinderen, ouderen en patiënten met de ziekte van Crohn. Het gebruik van probiotica liet in deze gevallen geen nadelige effecten zien (15). Tevens zijn er twee klinische studies gepubliceerd waarin lactobacillen zijn toegediend aan immuungecompromiteerde patiënten (5). Ook hier bleek het gebruik van deze bacterie veilig.

Ondanks het feit dat Lactobacillen wijdverspreid voorkomen, zijn er een relatief beperkt aantal gevallen gepubliceerd van infecties door deze bacterie. Tussen 1950 en 2003 zijn er 241 gevallen gerapporteerd van *Lactobacillus* geassocieerde infecties waaronder endocarditis en bloedvergiftiging (bacteremie) (15). Hierbij is er meestal sprake van een onderliggende oorzaak bij patiënten, zoals een verzwakt afweersysteem (16,17). Onlangs is door Bernardeau *et al.* gepubliceerd dat de kans op een *Lactobacillus* infectie in Frankrijk over een periode van 100 jaar ongeveer 1 geval per 10 miljoen mensen is (18).

Lactobacillen worden veelvuldig op planten aangetroffen, maar voor zover bekend bij de COGEM worden ze niet in verband gebracht met pathogeniteit voor planten (19).

Lactobacillus crispatus

Volgens de European Food and Feed Culture Association (EFFCA) wordt *L. crispatus* al lange tijd gebruikt in de voedselindustrie (8). Tot op heden zijn er geen publicaties verschenen, waarin *L. crispatus* werd geassocieerd met infecties in mensen. Op basis van de lange historie van veilig gebruik is deze bacteriesoort door de EFSA voorgedragen voor de QPS status (6). Hoewel lactobacillen over het algemeen een natuurlijke resistentie hebben tegen verschillende typen antibiotica, is er voor *L.*

crispatus geen multiresistentie beschreven (15). In het hypothetische geval van een infectie lijkt deze bacterie derhalve goed te behandelen met de huidige antibiotica. Gezien het algemeen voorkomen van deze bacterie in de mens, het feit dat er geen infecties in de mens zijn waargenomen en het jarenlange veilige gebruik van de bacterie in voedselbereiding, is de COGEM van mening dat *L. crispatus* als apathogeen moet worden aangemerkt.

Lactobacillus gasseri

Ook de bacterie soort *L. gasseri* wordt reeds lange tijd gebruikt in voedselbereiding en is door de EFSA voorgedragen voor de QPS-status (6,8).

Deze bacterie wordt aangetroffen in moedermelk en zorgt hierdoor voor de kolonisering van de darm met commensale bacteriën (20). In de literatuur wordt aan het gebruik van *L. gasseri* in probiotica verschillende positieve effecten toegeschreven.

Het bloed van 86 patiënten met een lactobacillusinfectie is geanalyseerd (21). Deze monsters zijn gedurende vele jaren verzameld door verschillende laboratoria in Finland. In slechts 3 bloedmonsters werd *L. gasseri* geïdentificeerd als verantwoordelijke bacterie. Een infectie met *L. gasseri* kan worden behandeld met de gangbare antibiotica, waaronder vancomycine.

Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat *L. gasseri* als apathogeen aangemerkt moet worden.

Lactobacillus johnsonii

Volgens de EFFCA wordt *L. johnsonii* al lange tijd gebruikt als startercultuur, waarbij deze bacterie aan melk wordt toegevoegd om het gewenste eindproduct te verkrijgen. De bacterie wordt daarom algemeen aangetroffen in gefermenteerde melkproducten. In de wetenschappelijke literatuur is *L. johnsonii* nooit geassocieerd met infecties in mensen. De EFSA heeft de bacterie soort *L. johnsonii* op basis van een lange historie van veilig gebruik voorgedragen voor de QPS status (6).

Gezien het algemeen voorkomen van deze bacterie in de mens en in voedsel zonder dat er nadelige effecten bekend zijn, is de COGEM van mening dat *L. johnsonii* als apathogeen moet worden aangemerkt.

4. Het genus *Leuconostoc*

Het genus *Leuconostoc* behoort tot de familie van Streptococcaceae. De bacteriën die behoren tot dit genus zijn Gram-positieve, anaerobe bacteriën en zijn resistent tegen het antibioticum vancomycine (22). Het genus is algemeen aanwezig in en op fruit en groente en in melkproducten (23). Bacteriën van het genus *Leuconostoc* spelen een belangrijke rol in de fermentatie van vele melkproducten, van zuurkool, augurken en verschillende soorten vlees.

Tot 1985 zijn er geen infecties met deze bacterie gerapporteerd in de mens en werd het genus beschouwd als niet-pathogeen (24). Sindsdien is een stijgend aantal infecties gepubliceerd van voornamelijk opportunistische ziekenhuisinfecties. Deze infecties veroorzaken onder andere bloedvergiftiging en kunnen voor immuungecompromiteerde patiënten dodelijk zijn (22,25,26). Infecties met de *Leuconostoc* worden vooral waargenomen in patiënten die voor een onderliggende ziekte behandeld zijn met het antibioticum vancomycine. Het merendeel van de humane infecties wordt veroorzaakt door *L. mesenteroides* gevolgd door *L. lactis*, *L. citreum* en *L. pseudomesenteroides* (22). De meeste *Leuconostoc* infecties worden succesvol bestreden met het antibioticum penicilline (27).

Er is éénmaal een infectie met een *Leuconostoc* bacterie gerapporteerd in een gezond persoon (28). Deze infectie leidde tot hersenvliesontsteking en werd succesvol behandeld met penicilline. In deze publicatie wordt niet vermeld welke *Leuconostoc* bacterie voor deze infectie verantwoordelijk was.

Er zijn bij de COGEM geen gegevens bekend over mogelijke pathogeniteit van *Leuconostoc* soorten in dieren en planten.

Leuconostoc mesenteroides var. *dextranicum* en *mesenteroides*

In het merendeel van de *Leuconostoc* infecties bij mensen wordt *L. mesenteroides* geïdentificeerd als verantwoordelijke bacterie (22). Hierbij dient echter opgemerkt te worden dat een dergelijke infectie nooit is waargenomen in gezonde mensen.

Volgens de EFFCA worden *L. mesenteroides* var. *dextranicum* en *mesenteroides* al lange tijd gebruikt als startercultuur (8). *L. mesenteroides* var. *mesenteroides* wordt gebruikt voor de productie van de polysaccharide dextraan. Deze verbinding wordt onder ander gebruikt als tijdelijke vervanging voor bloedplasma (23). *L. mesenteroides* var. *dextranicum* wordt gebruikt voor de bereiding van boter en kaas vanwege de smaakstof diacetyl die deze bacterie produceert (23). Op basis van een lange historie van veilig gebruik zijn beide variëteiten door de EFSA voorgedragen voor de QPS status (6).

Gezien bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat *L. mesenteroides* var. *dextranicum* en *mesenteroides* als apathogeen aangemerkt moeten worden.

Leuconostoc citreum

Zoals aangegeven, is een infectie met een *Leuconostoc* bacterie ongewoon en wordt vrijwel uitsluitend waargenomen in mensen met een verzwakte gezondheid (25). In patiënten met een *leuconostoc* infectie blijkt in ongeveer 25% van de gevallen *L. citreum* verantwoordelijk voor de infectie (22). *L. mesenteroides* en *L. lactis* worden iets vaker aangetroffen. Er zijn de COGEM geen publicaties bekend waarin de pathogeniteit van *L. citreum* in gezonde mensen is aangetoond.

L. citreum is een belangrijke startercultuur voor de bereiding van het zogenaamde Kimchi, dat voornamelijk bestaat uit gefermenteerde Chinese kool (29). Op basis van

een lange historie van veilig gebruik is *L. citreum* door de EFSA voorgedragen voor een QPS status (6). De COGEM is op basis van deze gegevens van mening dat *L. citreum* als apathogeen aangemerkt dient te worden.

Leuconostoc pseudomesenteroides

L. pseudomesenteroides is zelden in verband gebracht met een bacteriële infectie in mensen en wordt minder vaak aangetroffen in *Leuconostoc* infecties dan *L. mesenteroides*, *L. lactis* en *L. citreum*. Hierbij dient aangetekend te worden dat *L. mesenteroides* en *L. pseudomesenteroides* zeer sterk op elkaar lijken en lastig van elkaar te onderscheiden zijn (22). De betrokkenheid van *L. pseudomesenteroides* bij humane infecties is slechts in één enkele studie gerapporteerd. In deze studie wordt de infectie beschreven van een vijftal patiënten die in het ziekenhuis waren opgenomen vanwege andere medische klachten. *L. pseudomesenteroides* veroorzaakte in alle vijf gevallen een urineweginfectie (25). Voor zover bekend bij de COGEM wordt *L. pseudomesenteroides* niet gebruikt in de voedselindustrie en is daarom niet voorgedragen voor een QPS status.

L. pseudomesenteroides is nooit aangetroffen bij gezonde mensen. Daarbij wordt deze bacterie in mensen met verzwakte gezondheid minder vaak aangetroffen dan andere *Leuconostoc* soorten zoals *L. mesenteroides* en *L. citreum*, die beiden zijn voorgedragen voor de QPS status. Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat *L. pseudomesenteroides* als apathogeen aangemerkt moet worden.

5. De familie *Pseudomonadaceae*

De *Pseudomonadaceae* zijn Gram-negatieve, staaf-vormige bacteriën, die geen sporen vormen. Ze komen wijdverspreid voor in de natuur en het genus kent verschillende soorten die pathogeen zijn voor mens of plant.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa behoort tot de familie van de *Pseudomonadaceae* en is een Gram-negatieve, aerobe bacterie (30). De bacterie is alom vertegenwoordigd in bodem en water. *P. aeruginosa* wordt overgedragen door direct contact met verontreinigd water, via aerosolen of via slijm afkomstig van patiënten met geïnfecteerde slijmvliezen (30).

De bacterie staat vooral bekend als een opportunistisch pathogeen voor de mens. Vooral in ziekenhuizen treden veel infecties op. In 11 tot 13,8 % van alle ziekenhuisinfecties is *P. aeruginosa* de veroorzaker (31). Met name patiënten met cystic fibrosis, brandwonden, kanker en patiënten die een lange tijd op de intensive care moeten verblijven, lopen gevaar wanneer ze een infectie met *P. aeruginosa* oplopen. In toenemende mate wordt *P. aeruginosa* in verband gebracht met bacteriële meningitis, abcessen en endocarditis (30). Ook buiten het ziekenhuis zorgt de bacterie

voor infecties onder de bevolking. Voorbeelden zijn oog-, oor en huidontstekingen (31). Ook betreft het meestal personen met een verzwakt immuunsysteem maar er zijn ook meldingen gemaakt dat gezonde personen zijn overleden aan een infectie met *P. aeruginosa* (32,33). Naast mensen kan de bacterie ook infecties veroorzaken in insecten, nematoden, dieren en planten (34,35).

De effectiviteit van *P. aeruginosa* om een organisme te infecteren wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de aanwezigheid van een reeks van goed gereguleerde virulentiefactoren en defensiemechanismen zoals een natuurlijke resistentie tegen meerdere antibiotica (34). De behandeling van een infectie met *P. aeruginosa* verloopt daarmee moeizaam (31).

In België, Zwitserland, Duitsland, Verenigde Staten, Canada, Singapore, Japan en de Europese Unie, is *P. aeruginosa* geïdentificeerd als een organisme van klasse 2.

Gezien het feit dat *P. aeruginosa* vele organismen waaronder gezonde personen kan infecteren, is de COGEM van mening dat *P. aeruginosa* als pathogeen van klasse 2 ingeschaald moet worden.

6. Het genus *Stenotrophomonas*

Dit genus bestaat alleen uit de soort *Stenotrophomonas maltophilia*, een Gram-negatieve aerobe bacterie. In eerste instantie werd de bacterie in het genus *Xanthomonas* geplaatst en stond het bekend als *Pseudomonas maltophili* of *Xanthomonas maltophili*. In 1993 werd deze bacterie echter geïdentificeerd als *Stenotrophomonas* (36).

Stenotrophomonas maltophilia

S. maltophilia is een Gram-negatieve aerobe bacterie die resistent is tegen meerdere antibiotica (36). Deze bacterie wordt overwegend geïsoleerd uit de rhizosfeer van verschillende gewassen zoals tarwe, suikerbieten, zonnebloemen en orchideeën (37). Daarnaast is de bacterie ook ondermeer teruggevonden in rivierwater, bevroren vis, konijnen en humane feces, waterflessen, rioolwater, douchekoppen, dialyseapparatuur, bloed en urine (37,38).

Er is weinig bekend over de mogelijke virulentiefactoren van *S. maltophilia*. De bacterie bezit een zeer beperkte pathogeniteit. In eerste instantie werd *S. maltophilia* beschouwd uit een commensaal. Nu is bekend dat de bacterie ook infectieus kan zijn voor zeer verzwakte of immuungecompromitteerde personen (36-38). Infecties aan het hart, luchtwegen, ogen, centraal zenuwstelsel, urinewegen, huid, botten en het maagdarmsstelsel worden in verband gebracht met een infectie met *S. maltophilia*. In toenemende mate wordt de bacterie aangetroffen in patiënten met cystic fibrosis (37).

De meeste infecties vinden plaats in het ziekenhuis maar ook daarbuiten zijn infecties aangetoond (38). Indien personen geïnfecteerd zijn met *S. maltophilia* is de mortaliteit hoog (36). Verschillende studies hebben de mortaliteit van met *S. maltophilia* geïnfecteerde personen onderzocht. Hieruit bleek dat de mortaliteit

varieert van 21% tot 69% (39). Zelden vertonen gezonde personen een klinisch significante infectie maar het kan wel plaatsvinden (36). Een artikel maakt melding van een geval van endocarditis bij een gezonde man veroorzaakt door de bacterie (40).

S. maltophilia is resistent tegen veel beschikbare antibiotica (36). Dit is ook een van de redenen dat de frequentie van infecties veroorzaakt door *S. maltophilia* lijkt te stijgen (39). Van sommige *S. maltophilia* stammen is gerapporteerd dat ze antibioticaresistentie kunnen overdragen naar andere bacteriën zoals *P. aeruginosa*, *Enterobacteriaceae* en *Proteus mirabilis* (36).

In Australië, Nieuw-Zeeland, Zwitserland, Duitsland, Canada en Singapore, is *S. maltophilia* geclassificeerd als een organisme van klasse 2 (41).

Daar *S. maltophilia* veel verschillende infecties kan veroorzaken, niet alleen in het ziekenhuis maar ook daarbuiten infecties gevonden zijn en *S. maltophilia* gezonde mensen kan infecteren, is de COGEM van mening dat *S. maltophilia* als pathogeen van klasse 2 ingeschaald moet worden.

7. De familie Streptococcaceae

De *Streptococcaceae* zijn Gram-positieve, anaerobe bacteriën en worden algemeen aangetroffen in de flora van de mond, huid, darm en bovenste luchtwegen van de mens. Bacteriën die tot dit genus behoren kunnen zowel nuttig als ook ziek makend zijn voor mens en dier.

Streptococcus mutans

Streptococcus mutans behoort tot de familie van de *Streptococcaceae* en is een Gram-negatieve facultatief anaerobe bacterie. *S. mutans* wordt beschouwd als een van de belangrijkste veroorzakers van tandbederf oftewel cariës (42). Cariës wordt veroorzaakt door een verzuring van het orale milieu. Verzuring treedt op wanneer de bacteriën die in de mond aanwezig zijn suikers omzetten in zuren zoals melkzuur. Dit gevormde zuur tast het tandglazuur aan waardoor tandbederf optreedt. Wanneer de pH dermate laag wordt, zijn slechts enkele bacteriën in staat te overleven, zoals *S. mutans*. Ondanks dat *S. mutans* sterk wordt gekoppeld aan het ontstaan van cariës zijn er ook gevallen bekend waarbij cariës optreedt in de afwezigheid van een hoge concentratie aan *S. mutans* of waar een hoge concentratie aan *S. mutans* aanwezig is maar er geen cariës optreedt (43).

Daarnaast wordt de bacterie in verband gebracht met het ontstaan van endocarditis (43). In Nederland worden 250 personen per jaar getroffen door endocarditis. In 30 gevallen gaat het daarbij om een infectie veroorzaakt door *S. mutans* (44-45). Hierbij dient opgemerkt te worden dat endocarditis vaak aangrijpt op beschadigd hartweefsel en dat bij personen met een onbeschadigde binnenwand van het hart bacteriële endocarditis minder vaak voorkomt (45).

In Duitsland en Zwitserland, is *S. mutans* geclassificeerd als een organisme van klasse 2 (46). Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat *S. mutans* aangemerkt moet worden als pathogeen van klasse 2.

Advies

Op basis van bovenstaande overwegingen is de COGEM van mening dat de bacteriën die op de Duitse lijst als 1+ aangemerkt staan, op Bijlage 1 gehandhaafd kunnen blijven. Deze organismen zijn naar de mening van de COGEM apathogeen.

De COGEM adviseert de drie organismen die op de Duitse lijst als klasse 2 genoemd staan van Bijlage 1 te verwijderen. *Pseudomonas aeruginosa* kan vele verschillende organismen infecteren, en kan bij gezonde mensen infecties veroorzaken. *Stenotrophomonas maltophilia* en *Streptococcus mutans* kunnen ook gezonde personen infecteren. De COGEM adviseert daarom deze drie organismen in te schalen als een klasse 2 pathogeen.

Referenties

1. Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen. Mei 2004
2. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (2008-01-28) http://www.dsmz.de/microorganisms/fungus_catalogue.php
3. COGEM (2007). Classificatie van enkele micro-organismen van bijlage 1 van de Regeling ggo. COGEM advies CGM/070917-02
4. Biavati B *et al.* (2000). Bifidobacteria: history, ecology, physiology and applications. *Annals of microbiology* 50: 117-131
5. Borriello SP *et al.* (2003). Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clinical infectious diseases* 36:775-780
6. EFSA (2007). Annex 3: Assessment of Gram Positive Non-Sporulating Bacteria with respect to a Qualified Presumption of Safety.
7. EFSA (2004). QPS. Qualified Presumption of Safety of Micro-organisms in Food and Feed. EFSA scientific colloquium summary report. ISSN 1830-4737
8. EFFCA. Microorganisms with a documented history of use in food
9. Picard C *et al.* (2005). Review article: bifidobacteria as probiotica agents - physiological effects and clinical benefits. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* Aliment 22: 495-512
10. Besselink MGH, Van Santvoort HC en Buskens E (2008). Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, dooble-blind, placebo-controlled trial. *The lancet*: 371: 651-659
11. Collins MD (2006). The genus *Brevibacterium*. *Prokaryotes* 3: 1013-1019

12. Kaukoranta-Tolvanen SSE *et al.* (1995). Bacteremia caused by *Brevibacterium* species in and immunocompromised patient. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases* 14: 801-804
13. Funke G *et al.* (1997). Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clinical microbiology reviews* 10:125-129
14. McCaughey C en Damani NN (1991). Central venous line infection caused by *Brevibacterium epidermidis*. *The journal of infection* 23: 211-212
15. Bernardeau M *et al.* (2007). The *Lactobacillus* genus. *International journal of food microbiology* doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.015
16. Husni RN *et al.* (1997). *Lactobacillus* bacteremia and endocarditis: review of 45 cases. *Clinical Infectious diseases* 25: 1048-1055
17. Schlegel L *et al.* (1998). *Lactobacillus* species as opportunistic pathogens in immunocompromised patients. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases* 17: 887-888
18. Bernardeau M *et al.* (2006). Beneficial lactobacilli in food and feed: longterm use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiology Reviews* 30: 487-513
19. Mundt JO *et al.* (1968) Lactobacilli on plants. *Applied microbiology* 16: 1326-1330
20. Lara-Villoslada F *et al.* (2007). Beneficial effects of probiotic bacteria isolated from breast milk. *British Journal of Nutrition* 98: Suppl 1, S96-S100
21. Salminen MK *et al.* (2006). *Lactobacillus* bacteremia, species identification, and antimicrobial susceptibility of 85 blood isolates. *Clinical infectious diseases* 42:e35-44
22. Facklam R en Elliott JA (1995) Identification, classification, and clinical relevance of catalase-negative, Gram-positive cocci, excluding the Streptococci and Enterococci. *Clinical microbiology reviews* 3: 479-495
23. Carr FJ *et al.* (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews microbiology* 28: 281-370
24. Buu-Hoi A *et al.* (1985) Vancomycin-resistant streptococci or *Leuconostoc* sp. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 28: 458-460
25. Cappelli EA *et al.* (1999). *Leuconostoc pseudomesenteroides* as a cause of nosocomial urinary tract infections. *Journal of clinical microbiology* 37: 4124-4126
26. Dhodapkar KM en Henry NK (1996). *Leuconostoc* bacteremia in an infant with short-gut syndrome: case report and literature review. *Mayo Clinic proceedings*. *Mayo Clinic* 71: 1171-1174
27. Swenson JM *et al.* (1990) Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 34: 543-549
28. Coovadia YM *et al.* (1987) Meningitis caused by vancomycin-resistant *Leuconostoc* sp. *Journal of clinical microbiology* 25: 1784-1785

29. Choi IK, *et al.* (2003) Novel *Leuconostoc citreum* starter culture system for the fermentation of kimchi, a fermented cabbage product. *Antonie van Leeuwenhoek* 84: 247-253
30. Public Health Agency of Canada (2001). Material safety data sheet - infectious substances. *Pseudomonas spp.*
31. Driscoll JA, Brody SL en Kollef MH (2007). The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs* 67:351-368
32. Kang CI *et al.* (2005). Clinical features and outcome of patients with community-acquired *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia. *Clinical microbiology and infection* 11: 415-418
33. Harchette TF, Gupta R en Marrie TJ (2000). *Pseudomonas aeruginosa* community-acquired pneumonia in previously healthy adults: case report and review of literature. *Clinical infectious diseases* 31: 1349-1356
34. Walker TS *et al.* (2004). *Pseudomonas aeruginosa*-plant root interactions. Pathogenicity, biofilm formation, and root exudation. *Plant physiology* 134: 320-331
35. Mathee K *et al.* (2008). Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. *Proceedings of the national academy of science* 105: 3100-3105
36. Skaehill P (2000). Clinical review. Management of *Stenotrophomonas maltophilia* infection. *The consultant pharmacist*
37. Denton M en Kerr KG (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews* 11:57-80
38. Whitby PW *et al.* (2000). Identification and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* by rRNA-Directed PCR. *Journal of clinical microbiology* 38:4305-4309
39. Garcia Paez JI (2008). Factors associated with mortality in patients with bloodstream infection and pneumonia due to *Stenotrophomonas maltophilia*. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases* DOI 10.1007/s10096-008-0518-2
40. Shimoni S *et al.* (1998). Letters to the editor. *Stenotrophomonas maltophilia* endocarditis following dental treatment in a previously healthy patient. *Journal of infection* 37:305-312
41. Public Health Agency of Canada (2001). Material safety data sheet - infectious substances. *Stenotrophomonas maltophilia*.
42. Hamada S en Slade HD (1980). Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. *Microbiological reviews* 44:331-384
43. Banas JA (2004). Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Frontiers in Bioscience* 9: 1267-1277
44. Horaud T en Delbos F (1984). Viridans streptococci in infective endocarditis: species distribution and susceptibility to antibiotics. *European Heart Journal* 5: Suppl C 39-44
45. St. Antonius ziekenhuis. Bacteriële endocarditis, afdeling cardiologie. Internet: www.antonius.net/geel/folders/car/CAR%2034-endocarditis.pdf (26 mei 2008)

46. Public Health Agency of Canada (2001). Material safety data sheet - infectious substances. *Streptococcus spp.*