



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

**DATUM** 6 augustus 2008  
**KENMERK** CGM/080806-01  
**ONDERWERP** Advies classificatie van *Lactobacillus rhamnosus*

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de vergunningaanvraag van NIZO food research B.V. betreffende de classificatie van *Lactobacillus rhamnosus*, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de classificatie van *Lactobacillus rhamnosus*. Deze bacterie staat momenteel ingedeeld als klasse 2 organisme. Dergelijke klasse 2 organismen kunnen bij mensen een ziekte veroorzaken waarvan het onwaarschijnlijk is dat deze zich onder de bevolking verspreidt. Daarnaast bestaat er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding. Laboratoriumwerkzaamheden dienen minimaal plaats te vinden op ML-II inperkingsniveau. De aanvrager verzoekt om de soort *L. rhamnosus* te beschouwen als een zogenaamd klasse 1 organisme; dit zijn niet-ziekteverwekkende organismen. Werkzaamheden kunnen in dit geval op ML-I niveau plaatsvinden. Opportunistische pathogenen, die een ziekte kunnen veroorzaken bij immuungecompromiteerde individuen, worden als niet-ziekteverwekkend (apathoëen) beschouwd

*L. rhamnosus* is als commensaal bij de mens aanwezig en komt daarnaast wijdverspreid in de natuur voor. De afgelopen 60 jaar zijn slechts een klein aantal infecties met deze bacterie beschreven. Infecties traden hoofdzakelijk op bij immuungecompromiteerde patiënten. In enkele gevallen werden infecties beschreven bij personen met een onderliggende aandoening. Verder heeft de European Food Safety Authority *L. rhamnosus* veilig bevonden voor gebruik in voedselproducten.

Gezien het bovenstaande is de COGEM van mening dat *L. rhamnosus* beschouwd kan worden als apathoëen en als klasse 1 organisme kan worden ingedeeld.

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

## Classificatie van *Lactobacillus rhamnosus*

### COGEM advies CGM/080806-01

#### Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van *Lactobacillus rhamnosus*. De aanvrager verzoekt om deze bacteriesoort, die momenteel ingedeeld is als klasse 2, te classificeren als klasse 1 organisme en daarmee op te nemen op de zogenaamde Bijlage 1 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo).

#### Kenmerken van *L. rhamnosus*

*L. rhamnosus* behoort tot het geslacht *Lactobacillus* en tot de melkzuurbacteriën (1). Lactobacillen zijn in de natuur wijdverspreid en komen op planten en plantaardig materiaal voor. Daarnaast komen ze ook veelvuldig voor als commensaal bij mens en dier (1). Bij gezonde mensen zijn de bacteriën aanwezig in het maag-darmkanaal, de mondholte en de vagina (1).

Lactobacillen spelen een belangrijke rol bij de productie van gefermenteerd voedsel, zoals groenten, vlees, kaas en yoghurt. Tevens worden enkele stammen gebruikt als probiotica in zuivelproducten, waaronder de stam *L. rhamnosus* GG (LGG).

Hoewel, lactobacillen veelvuldig voorkomen, zijn slechts een beperkt aantal infecties met deze bacteriën gerapporteerd. Tussen 1950 en 2003 werden in de literatuur 241 gevallen beschreven van *Lactobacillus* geassocieerde infecties (2). Vooral endocarditis en bloedvergiftiging traden op, maar ook buikvliesontsteking, abscessen en hersenvliesontsteking kwamen voor (2). Infecties traden met name op bij personen met een verzwakt immuunsysteem of bij patiënten met een (onderliggende) ziekte, zoals kanker en hartziekten (2).

Een van de belangrijkste veroorzakers van *Lactobacillus* geassocieerde infecties is *L. rhamnosus*. De bacterie was in 32 van de 241 gedocumenteerde infecties de veroorzaker (2). *L. rhamnosus* veroorzaakt vaak bacteriëmie, waarbij bacteriën in het bloed aanwezig zijn en zodoende infecties in het gehele lichaam kunnen veroorzaken (2). Daarnaast komen ontstekingen van de binnenkant van het hart en plaatselijke infecties voor (2). *L. rhamnosus* infecteert met name immuungecompromitteerde personen. Ook zijn enkele infectie beschreven bij mensen met een onderliggende aandoening, zoals een ontsteking van de alveesklier en beschadiging van het darmslijmvlies door zweren (3,4). Bovendien is een secundaire infectie na een endoscopie van de darm gemeld (5). Verder zijn drie publicaties verschenen betreffende personen met als onderliggende aandoening diabetes (6,7,8). In twee

gevallen gebruikten deze personen probiotica met *L. rhamnosus*, waarbij één persoon gedurende 4 maanden dagelijks een halve liter dronk (6,7).

De laatste tien jaar is het gebruik van probiotica met LGG flink gestegen. LGG is een van de meest bestudeerde probiotische stammen (9). Studies naar de werking en veiligheid van deze bacterie worden veelal uitgevoerd in kwetsbare groepen, zoals (zieke) zuigelingen, kinderen en patiënten geïnfecteerd met het *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) (10,11). In 2004 stelde de European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatitis and Nutrition dat de probiotica die tot dusver gehanteerd zijn in klinische studies als veilig kunnen worden beschouwd (12).

Naar aanleiding van het toenemende gebruik van probiotica is in Finland een studie uitgevoerd om te bepalen of de incidentie van een bloedvergiftiging door LGG (9) is toegenomen. Er werd geen correlatie gevonden (9).

### **Adviesvraag**

De aanvrager is voornemens om *L. rhamnosus* genetisch te modificeren door het inbrengen van genomisch DNA afkomstig van andere melkzuurbacteriën. Daarnaast wil hij onder meer genclusters betrokken bij de biosynthese van celwandpolysacchariden van *Streptococcus pneumoniae* toevoegen. De aanvrager verzoekt om de gehele soort *L. rhamnosus* te beschouwen als klasse 1 organisme en daarmee op te nemen op Bijlage 1 (zie hieronder). De bacterie is momenteel ingedeeld als een micro-organisme van klasse 2. Deze organismen kunnen bij mensen een ziekte veroorzaken waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat (13). Werkzaamheden met klasse 2 organismen vinden in de regel plaats op ML-II niveau. Indien *L. rhamnosus* wordt beschouwd als klasse 1 organisme, dan kunnen werkzaamheden worden uitgevoerd op ML-I niveau.

### *Bijlage 1*

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 (13). 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 (13):

- 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 immungecompromiteerde individuen, worden als niet pathogeen (apathogeen) beschouwd en kunnen op Bijlage 1 geplaatst worden.

### **Overweging en advies**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van de bacterie *L. rhamnosus*. Voor een klasse 1 erkenning dient het organisme aan één of meerdere van de eerder genoemde criteria te voldoen.

*L. rhamnosus* is bij de mens als commensaal veelvuldig aanwezig. Ook in de natuur komt deze bacterie wijdverspreid voor. De afgelopen 58 jaar is wereldwijd echter slechts een klein aantal infecties met *L. rhamnosus* beschreven. Het betreft hoofdzakelijk infecties bij immungecompromiteerde patiënten en bij enkele personen met een onderliggende aandoening. Verder hebben twee geraadpleegde externe deskundigen aangegeven dat ook zij slechts bekend zijn met infecties bij immungecompromiteerde patiënten.

Bovendien heeft de European Food Safety Authority (EFSA) *L. rhamnosus* de status van 'Qualified Presumption of Safety' (QPS) verleend (14). Deze status wordt verleend aan organismen die veilig zijn bevonden voor gebruik in voedselproducten.

Ten slotte worden lactobacillen veelvuldig op planten aangetroffen, maar voor zover bekend bij de COGEM worden ze niet in verband gebracht met pathogeniteit voor planten (15).

Op basis van het bovenstaande is de COGEM van mening dat *L. rhamnosus* beschouwd kan worden als apathogeen en op Bijlage 1 geplaatst kan worden.

## Referenties

1. Bernardeau M *et al.* (2007). The *Lactobacillus* genus. International journal of food microbiology doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.015
2. Cannon JP *et al.* (2005). Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 24: 31-40
3. Farina C *et al.* (2001). *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* sepsis in a patient with ulcerative colitis. J Clin Gastroenterol. 33(3): 251-252.
4. Brahimi M *et al.* (2008). Two cases of *Lactobacillus rhamnosus* infection and pancreatitis. Med Mal Infect 38(1): 29-31
5. Avlami A *et al.* (2001). *Lactobacillus rhamnosus* endocarditis complicating colonoscopy. J Infect 42(4): 283-285
6. Rautio M *et al.* (1999). Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. Clin Infect Dis 28: 1159-1160
7. Zein EF *et al.* (2008). *Lactobacillus rhamnosus* septicemia in a diabetic patient associated with probiotic use: a case report. Ann Biol Clin 66(2): 195-198.
8. Notario R *et al.* (2003). Hepatic abscess and bacteriemia due to *Lactobacillus rhamnosus*. Rev Argent Microbiol 35(2): 100-101
9. Salminen MK *et al.* (2002). *Lactobacillus* bacteremia during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. Clin Infect Dis 35:1155-1160
10. Goldin BR en SL Gorbach (2008). Clinical indications for probiotics: an overview. Clin Inf Dis 46: S96-100
11. Hammerman C *et al.* (2006). Safety of probiotics: comparison of two popular strains. BMJ 333: 1006-1008
12. ESPGHAN Committee on Nutrition (2004). Probiotic bacteria in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. J Pediatr Gastroenterol Nutr 38: 365-374
13. Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen. Mei 2004
14. European Food Safety Authority (2007). Introduction of a qualified presumption of safety (QPS) approach for assessment of selected microorganisms referred to EFSA; Opinion of the scientific committee (Question no EFSA-Q-2005-293). The EFSA journal 587: 1-16
15. Mundt JO *et al.* (1968) *Lactobacilli* on plants. Applied microbiology 16: 1326-1330

## Geraadpleegde deskundigen:

- Prof. dr. M.J. Bonten, Universiteit Utrecht
- Dr. E.E. Stobberingh, Universiteit Maastricht