

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

DATUM 9 juli 2009
KENMERK CGM/090709-03
ONDERWERP Advies herziening classificatie *Bacillus anthracis*

Geachte mevrouw Cramer,

De COGEM heeft de classificatie van *Bacillus anthracis* heroverwogen en is tot het volgende advies gekomen.

Samenvatting

De bacterie *B. anthracis* is in de Regeling ggo ingedeeld als een klasse 2 pathogeen. Volgens de Europese ARBO-wetgeving is *B. anthracis* een klasse 3 pathogeen. Deze discrepantie was voor de COGEM aanleiding om op dit punt tot een geactualiseerd advies te komen.

De bacterie *B. anthracis* is een dierpathogeen dat antrax (miltvuur) bij dieren en mensen kan veroorzaken. *B. anthracis* kan sporen vormen die vele jaren in de bodem kunnen overleven. Vee wordt veelal door sporen uit de bodem besmet. Mensen kunnen besmet worden door sporen afkomstig van besmette dieren, kadavers of dierlijke materialen. Infecties van wondjes in de huid of het maag-darmkanaal, of het inademen van sporen kan leiden tot antrax. Infectie van de huid komt het meeste voor en is meestal zelflimiterend. Een infectie in het maagdarmkanaal of de longen vangt aan met algemene symptomen, waarna een snelle verslechtering optreedt. Omdat antrax in alle vormen potentieel dodelijk is zonder tijdige behandeling met antibiotica, acht de COGEM antrax een ernstige ziekte.

Er bestaan humane vaccins tegen antrax. De prevalentie in Nederland is al 30 jaar zeer laag. *B. anthracis* zal zich na infectie van een persoon niet verder verspreiden onder de bevolking omdat antrax bij mensen niet besmettelijk is. Anderzijds is *B. anthracis* een potentieel dodelijke pathogeen dat zich via sporen aerogeen kan verspreiden.

Op grond van de ernst van de ziekte en de wijze van besmetting via aerogeen overdraagbare sporen, adviseert de COGEM *B. anthracis* als een klasse 3 pathogeen in te schalen.

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, stylized initial 'Z' followed by a long horizontal stroke that ends in a small hook.

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

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

Herziening van de classificatie van *Bacillus anthracis*

COGEM advies CGM/090709-03

Inleiding

Recent heeft de COGEM een adviesvraag behandeld over een vaccinstam van de bacterie *Bacillus anthracis*.¹ Naar aanleiding van deze adviesvraag werd een discrepantie opgemerkt in de classificatie van *B. anthracis*. In de Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen² (Regeling ggo) is *B. anthracis* in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld. In de Europese ARBO-wetgeving (richtlijn 2000/54/EG) wordt *B. anthracis* ingeschaald als klasse 3 pathogeen. In dit advies heroverweegt de COGEM de classificatie van *B. anthracis*.

Bacillus anthracis

Miltvuur, of antrax, wordt veroorzaakt door de bacterie *B. anthracis*. Het genus *Bacillus* bevat bacteriën die aeroob zijn en endosporen kunnen vormen.³ De vegetatieve bacterie maakt een spore aan bij gebrek aan nutriënten. Deze sporen zijn resistent tegen extreme omstandigheden en kunnen tientallen jaren in de bodem overleven. De sporen ontwikkelen zich weer tot de bacterie als ze in contact komen met nutriënten, water en een stressfactor zoals zuurgraad.³

Dieren zijn de natuurlijke gastheer van *B. anthracis*, maar mensen kunnen ook geïnfecteerd worden. Vee wordt veelal tijdens grazen door sporen in de bodem besmet. Mensen kunnen besmet raken door direct of indirect contact met dieren, kadavers of dierlijke materialen die sporen bevatten.

Indien de sporen in het lichaam terechtkomen en ontkiemen, zal de vegetatieve bacterie zich vermenigvuldigen en antrax veroorzaken. De virulentie van *B. anthracis* wordt bepaald door toxines die uitgescheiden worden en het kapsel dat de bacterie omhult. Het kapsel bestaat uit polypeptiden en remt opname en afbraak van de bacterie door macrofagen.³ Drie toxine-eiwitten (Protective Antigen, Edema Factor, en Lethal Factor) vormen samen twee toxinecomplexen (Edema Toxin en Lethal Toxin), die verantwoordelijk zijn voor de symptomen van antrax.³

De ziekte antrax

Er zijn drie vormen van antrax: cutane, gastro-intestinale en respiratoire antrax, die allen potentieel dodelijk zijn zonder behandeling.⁴ Meer dan 95% van de gevallen van infectie met *B. anthracis* zijn infecties van wondjes in de huid, die resulteren in cutane antrax.^{4,5} Na infectie ontstaat een pijnloos, jeukend huidknobbeltje wat zich ontwikkelt tot een zweer met een korst en zwelling eromheen. De infectie kan zich verder verspreiden, maar is meestal zelflimiterend.⁴ Behandeling met antibiotica voorkomt verspreiding naar andere organen en zorgt daardoor voor volledig herstel.

Het inslikken van sporen kan leiden tot infectie van een beschadiging in het spijsverteringsstelsel, wat resulteert in gastro-intestinale antrax. Een infectie in de keel gaat gepaard met moeilijk slikken, koorts, zwelling van de lymfeklieren en bloedvergiftiging. Infectie van de darmen vangt aan met symptomen als misselijkheid, braken en koorts, waarna buikpijn

ontstaat met bloederig braaksel en bloederige diarree. Gastro-intestinale antrax komt zelden voor⁶, maar is vaak dodelijk.³ Behandeling met antibiotica in de vroege stadia van gastro-intestinale antrax kan tot genezing leiden.

Respiratoire antrax ontstaat na het inademen van *B. anthracis* sporen. De symptomen zijn eerst griepachtig, waarna een dramatische verslechtering plaatsvindt met symptomen als hoge koorts, ernstige kortademigheid, cyanose en bloed opgeven. Een persoon met respiratoire antrax zal doorgaans zonder behandeling binnen drie dagen na de aanvang van de eerste symptomen doodgaan.³ Behandeling van respiratoire antrax met antibiotica in de vroege stadia van de ziekte kan tot genezing leiden.

Voor antrax zijn humane en veterinaire vaccins beschikbaar. Vaccinatie van vee heeft wereldwijd tot een grote reductie in het aantal gevallen van antrax bij dier en mens geleid.⁴ Vaccins voor humaan gebruik in Groot-Brittannië en de Verenigde Staten bestaan uit het toxine-eiwit Protective Antigen, geïsoleerd uit een *B. anthracis* cultuur.⁶

Transmissie van de bacterie van mens op mens is bijzonder zeldzaam.^{4,7} Grootschalige verspreiding van antrax onder de bevolking kan voorkomen indien de sporen machinaal of handmatig effectief verspreid worden.

De prevalentie in Nederland is bij zowel dieren als mensen op dit moment zeer laag. Sinds 1976 zijn in Nederland zeven gevallen van humane antrax gemeld.⁷ Het laatste geval van antrax bij dieren was in 1994, bij een koe waarvan de eigenaar graafwerkzaamheden had verricht.⁷

Classificatie *Bacillus anthracis*

In de Regeling ggo staan de voorschriften voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen beschreven.² Een lijst van pathogene micro-organismen met hun indeling in verschillende klassen is in deze Regeling opgenomen. Er zijn vier verschillende pathogeniteitsklassen benoemd. Pathogeniteitsklassen 2 en 3 worden als volgt gedefinieerd in de Regeling ggo:

- Micro-organisme van klasse 2:
Micro-organisme dat bij mensen een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat, alsmede een micro-organisme dat bij planten of dieren een ziekte kan veroorzaken.
- Micro-organisme van klasse 3:
Micro-organisme dat bij mensen een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat die zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat.

Een pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met een genetisch gemodificeerd micro-organisme van die klasse. Zo houdt een indeling van een organisme in klasse 2 in dat werkzaamheden met dat organisme op ML-II inperkingsniveau moeten plaatsvinden.

In 1982 is *B. anthracis* in 1982 door de Commissie ad hoc Recombinant DNA Werkzaamheden ingedeeld in klasse 2, op basis van de toenmalig geldende indeling van pathogene micro-organismen van de Nederlandse Vereniging voor Microbiologie. Deze indeling vond plaats in het kader van een verzoek om advies over de classificatie van micro-organismen van de minister van Sociale Zaken en Werkgelegenheid bij de instelling van het Recombinant DNA Besluit. Voor zover bekend heeft de COGEM of haar voorlopers sindsdien geen advies uitgebracht dat specifiek over de classificatie van *B. anthracis* ging. In de huidige Regeling ggo is *B. anthracis* ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.

De ARBO-wetgeving classificeert *B. anthracis* als een klasse 3 pathogeen. De ARBO-regelgeving heeft onder meer ten doel werknemers te beschermen tegen de risico's van blootstelling aan biologische agentia.

In de Duitse gg-regeling is pathogeniteitsklasse 3 gekozen als uitgangspunt voor werkzaamheden met recombinante *B. anthracis*.⁸ In Canada wordt voor werkzaamheden met wildtype *B. anthracis* Biosafety Level 3 voorgeschreven.⁹ De 'National Institutes of Health' in de Verenigde Staten heeft *B. anthracis* ingedeeld in Risk Group Level 2.¹⁰

Eerder COGEM advies

Recent heeft de COGEM geadviseerd over werkzaamheden met vaccinstam *B. anthracis* 'Sterne'.¹ De aanvrager wilde een gen inactiveren dat betrokken is bij vetzuursynthese. De Sterne stam kent een lange historie van veilig gebruik als vaccin voor vee en is sterk geattenuëerd. De COGEM adviseerde de uitvoering van de werkzaamheden op ML-II niveau met aanvullende voorschriften om het risico op cutane en respiratoire antrax verder te minimaliseren.

Overweging en advies

B. anthracis kan via verschillende routes het lichaam binnendringen en een infectie veroorzaken. Het overgrote deel van de gevallen betreft cutane antrax, verkregen via een wondje in de huid. Gastro-intestinale antrax kan verkregen worden door het inslikken van sporen en komt zelden voor. Respiratoire antrax wordt verkregen door inademing van sporen. Antrax kan in alle drie de vormen dodelijk zijn als er geen tijdige behandeling met antibiotica plaatsvindt, hoewel cutane antrax meestal zelflimiterend is. Vanwege de mogelijk dodelijke afloop na een infectie met *B. anthracis*, acht de COGEM antrax een ernstige ziekte.

In Nederland is antrax bij de mens zeer zeldzaam. De Public Health Agency of Canada meldt dat er in Canada 45 infecties met *B. anthracis* zijn voorgevallen.⁹ Deze infecties hebben voornamelijk plaatsgevonden in onderzoeksinstituten. Van de 45 infecties waren 5 gevallen dodelijk. De Public Health Agency of Canada geeft geen nadere details over deze voorvallen van antrax.

B. anthracis zal zich na infectie van een persoon niet verder verspreiden onder de bevolking omdat antrax niet overdraagbaar is van mens op mens.

De huidige indeling van *B. anthracis* in pathogeniteitsklasse 2 houdt in dat werkzaamheden met de recombinante bacterie uitgevoerd moeten worden in een ML-II laboratorium. Tijdens het kweken van *B. anthracis* ontstaan na 2 à 3 dagen sporen³. De efficiëntie van sporulatie hangt af van factoren zoals de bacteriestam, het medium en de condities. Op medium zonder glucose hebben verschillende *B. anthracis* stammen een percentage van 80% sporulatie na 24 uur.¹¹ De sporen kunnen zich verplaatsen via aerosolen.

In een ML-II ruimte is het niet mogelijk de ramen te openen. Er is een klasse II veiligheidskabinet aanwezig, waarin de werkzaamheden met *B. anthracis* moeten worden uitgevoerd. De toegang is verboden voor onbevoegden en de deur is op slot wanneer er geen personeel aanwezig is. Deze ML-II voorschriften gelden ook voor een ML-III laboratorium. Daarnaast beschikt een ML-III ruimte echter over onderdruk en luchtfilters, waardoor aerogene verspreiding van pathogenen geminimaliseerd wordt. Ook is de toegang tot een ML-III laboratorium beperkt tot de medewerkers die direct bij de werkzaamheden betrokken zijn.

Op grond van de ernst van de ziekte en de wijze van besmetting via aerogeen overdraagbare sporen, adviseert de COGEM *B. anthracis* als een klasse 3 pathogeen in te schalen.

Referenties

1. COGEM (2009). Inschaling van werkzaamheden met vaccinstam *Bacillus anthracis* Sterne. Advies CGM/090317-03
2. VROM (2004). Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen
3. Bacterial morphology and cell wall structure and synthesis/*Bacillus* (2002). In: *Medical Microbiology*. Edited by: Murray PR *et al.* 11-24/240-244
4. Turnbull PCB *et al.* (1998). Guidelines for the surveillance and control of anthrax in humans and animals. WHO/EMC/ZDI/98.6. World Health Organization, Geneva, Switzerland
5. Hambleton P *et al.* (1984). Anthrax: the disease in relation to vaccines. *Vaccine* 2: 125-132
6. Grabenstein JD (2008). Countering anthrax: vaccines and immunoglobulins. *Clin. Infect. Dis.* 46:129-136
7. RIVM/LCI – Antrax/miltvuur richtlijn. www.rivm.nl/cib/infectieziekten-A-Z/infectieziekten/Antrax/index.jsp (21-04-2009)
8. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit - Lijst risicoafweging organismen voor genetische modificatie: www.bvl.bund.de/cln_027/nn_491872/DE/06__Gentechnik/00__doks__downloads/06__Register__Datenbanken/organismenliste.templateId=raw,property=publicationFile.pdf/organismenliste.pdf (4-2-2009)
9. Public health agency of Canada – Material safety data sheet *Bacillus anthracis*: www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds12e-eng.php (22-04-2009)
10. American Biological Safety Association – Risk group classification *Bacillus anthracis*: www.absa.org/riskgroups/bacteriasearch.php?genus=bacillus&species=anthracis (22-04-2009)
11. Kim HU & Goepfert JM (1974). A sporulation medium for *Bacillus anthracis*. *J. Appl. Bact.* 37:265-267