

Aan de staatssecretaris
van Infrastructuur en Milieu
Mevrouw W.J. Mansveld
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 29 maart 2013
KENMERK CGM/130329-02
ONDERWERP Advies classificatie van de orale bacterie *Streptococcus oligofermentans*

Geachte mevrouw Mansveld,

Naar aanleiding van een wijzigingsaanvraag van de vergunning getiteld 'Onderzoek naar virulentie eigenschappen van orale bacteriën' van het VU medisch centrum deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting

De COGEM is gevraagd om de orale bacterie *Streptococcus oligofermentans* te classificeren voor gg-werkzaamheden. Sommige *Streptococcus* soorten bevinden zich van nature in de flora van de huid, mond- en keelholte en darmen van de mens en zijn onschadelijk, maar er zijn ook ziekteverwekkende kokken zoals *S. pneumoniae*.

S. oligofermentans is in 2003 geïsoleerd uit de mond van patiënten die geen tandbederf (cariës) hadden. In een latere studie is de bacterie in de normale mondflora van zeven mensen gevonden. De COGEM leidt hieruit af dat *S. oligofermentans* van nature in de mondholte van mensen voorkomt. De bacterie remt de groei van *Streptococcus mutans* op het tandglazuur, waardoor er minder kans is op het ontstaan van cariës.

Streptokokken worden vaak als opportunistische pathogeen geassocieerd met ontsteking van de hartklep (endocarditis). Sinds de eerste beschrijving van *S. oligofermentans* is er één geval gerapporteerd van met *S. oligofermentans* geassocieerde endocarditis. De COGEM beschouwt dit geval als een opportunistische infectie. De virulentie van de bacterie is lager dan die van andere *Streptococcus* soorten.

Op basis van het voorgaande is de COGEM van mening dat *S. oligofermentans* een opportunistische pathogeen is, die van nature in de mond aanwezig is. De COGEM adviseert daarom *S. oligofermentans* in te schalen als klasse 1 pathogeen en op Bijlage 1 te plaatsen. Werkzaamheden met *S. oligofermentans* kunnen conform de pathogeniteitsklasse op ML-I inperkingsniveau plaatsvinden.



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

Hoogachtend,

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

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Dr. I. van der Leij, Ministerie van IenM

Classificatie van de orale bacterie *Streptococcus oligofermentans*

COGEM advies CGM/130329-02

Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van de orale bacterie *Streptococcus oligofermentans*. De adviesvraag heeft betrekking op de aanvraag tot wijziging van een vergunning getiteld 'Onderzoek naar virulentie eigenschappen van orale bacteriën'.

De aanvrager heeft verschillende gg-stammen van *S. oligofermentans*, waarin deleties of reporter genen zijn aangebracht, uit het buitenland opgevraagd. De aanvrager wil deze stammen verder modificeren en deze hierna testen op gg-humane cellijnen. Het doel hiervan is om het effect van de gg-bacteriën op de humane cellijnen te bestuderen, met name wat betreft de activatie van signaaltransductieroutes en de respons op stresscondities.

De aanvrager stelt voor om *S. oligofermentans* in te schalen in pathogeniteitsklasse 1 en op Bijlage 1 van de Regeling GGO te plaatsen, zodat werkzaamheden met *S. oligofermentans* op ML-I inperkingsniveau plaats kunnen vinden.

Streptococcus oligofermentans

S. oligofermentans behoort tot het genus *Streptococcus*, dat bestaat uit bolvormige grampositieve bacteriën die paren of ketens vormen en meestal facultatief anaeroob zijn. Streptokokken kunnen zowel onschadelijk als ziekteverwekkend zijn voor zoogdieren. Commensale streptokokken worden aangetroffen in de flora van de huid, de bovenste luchtwegen en de mond en darmen van de mens. Daarnaast omvat het genus *Streptococcus* meerdere humane en veterinaire pathogenen, waaronder toxineproducerende kokken zoals *S. pneumoniae*.

S. oligofermentans behoort tot de groep van de zogenaamde viridans-streptokokken, waarvan sommige soorten tandbederf of cariës kunnen veroorzaken. *S. oligofermentans* is in 2003 voor het eerst door Tong *et al.* geïsoleerd uit de mond van patiënten die kanker in de neus- en keelholte hadden.¹ Deze patiënten hadden geen cariës. Er zijn aanwijzingen dat *S. oligofermentans* een antagonistisch effect heeft op *Streptococcus mutans*, een belangrijke veroorzaker van cariës. *S. mutans* kan efficiënt suikers omzetten in melkzuur, dat de tanden aantast. Slechts enkele bacteriën, waaronder *S. mutans*, kunnen overleven in een dergelijk zuur milieu. De groep van Tong *et al.* heeft aangetoond dat *S. oligofermentans* tandbederf door *S. mutans* inhibeert door het omzetten van melkzuur in waterstofperoxide.² Hierdoor wordt de groei van *S. mutans* geremd. In een studie naar de biologische karakteristieken van *S. oligofermentans* werd de bacterie bij 7 van 18 proefpersonen gevonden in de mondholte.³ Hierbij werd *S. oligofermentans* voornamelijk in de normale mondflora (tandplak) gevonden, en slechts eenmaal in een gaatje (cariës).

De viridans-groep streptokokken zijn over het algemeen laagpathogeen, hoewel ze geassocieerd worden met ontsteking van de hartklep (endocarditis).⁴ Er is één geval beschreven

van met *S. oligofermentans* geassocieerde endocarditis bij een patiënte met een onopmerkelijke medische historie.⁵ Na een hartklepoperatie en het toedienen van antibiotica herstelde de patiënte van de infectie. Binnen de viridans-groep is *S. oligofermentans* fylogenetisch het meest verwant aan de *Streptococcus mitis*-groep. Net als *S. mitis* bindt *S. oligofermentans* plasminogeen, een factor in de ontwikkeling van endocarditis. *S. oligofermentans* bindt echter lagere hoeveelheden plasminogeen dan *S. mitis*.⁶

S. pneumoniae, een streptokok die longontsteking kan veroorzaken, behoort ook tot de groep van de viridans-streptokokken. Een cruciale virulentiefactor van *S. pneumoniae* is het zink-metalloprotease IgA1. Er is aangetoond dat in *S. oligofermentans* deze virulentiefactor geen activiteit vertoont.⁷

Pathogeniteitsclassificatie

In de Regeling ggo worden micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen.⁸ Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1, die gevormd wordt door niet pathogene (apathogene) micro-organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene micro-organismen.

Volgens de Regeling ggo is een indeling in pathogeniteitsklasse 1 van toepassing als het micro-organisme minimaal aan één van de volgende criteria voldoet:

- het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant.
- het heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen zijn getroffen.
- het 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.
- het niet-virulente karakter van het micro-organisme is door middel van adequate tests aangetoond.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 2 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat die zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat, alsmede een micro-organisme dat bij planten of dieren ziekte kan veroorzaken.

Bijlage 1 Regeling ggo

Bijlage 1 van de Regeling ggo is een lijst van micro-organismen die in principe niet pathogeen zijn voor mens, dier of plant (pathogeniteitsklasse 1). 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.⁸

Voorbeelden van potentieel ‘gevaarlijke’ inserties zijn genen die coderen voor toxines, virulentie- of pathogeniteitsfactoren en virale en cellulaire oncogenen.

In de huidige inschalingspraktijk wordt een micro-organisme als pathogeen gezien als deze bij mensen met een normaal functionerend immuunsysteem ziekte kan veroorzaken. Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem, worden in de regel als niet pathogeen beschouwd en kunnen, als aan een van de bovengenoemde voorwaarden is voldaan, op Bijlage 1 geplaatst worden.

Eerder COGEM advies

Eind 2011 heeft de COGEM geadviseerd over de classificatie van (a)pathogene bacteriën.^{9,10} Alle streptokokken die hierbij aan bod zijn gekomen, waaronder *S. mitis*, zijn aangemerkt als klasse 2 pathogeen. *S. oligofermentans* is nog niet geclassificeerd.

Verder heeft de COGEM verschillende malen over specifieke soorten streptokokken geadviseerd. De twee dierpathogene streptokokken *S. suis* en *S. uberis* zijn ingedeeld als klasse 2 pathogeen, evenals de toxineproducerende soort *S. pneumoniae*, welke longontsteking bij mensen veroorzaakt.^{11,12,13}

De COGEM heeft tweemaal eerder over orale streptokokken geadviseerd. De streptokok *S. gordonii* is een commensale mondbacterie, die bij mensen met een verzwakt immuunsysteem endocarditis kan veroorzaken. COGEM beschouwt *S. gordonii* als een opportunistische pathogeen, en heeft *S. gordonii* daarom ingeschaald in pathogeniteitsklasse 1 en op Bijlage 1 geplaatst.¹⁴ Verder heeft de COGEM geadviseerd de orale streptokok *S. mutans* als klasse 2 pathogeen in te schalen. Deze streptokok is een van de belangrijkste veroorzakers van cariës, en kan ook endocarditis veroorzaken.¹⁵

Overweging

Het genus *Streptococcus* kent naast verschillende veterinaire en humane pathogenen ook vele ongevaarlijke commensale bacteriën. Samen met een twintigtal andere streptokokkensoorten wordt *S. oligofermentans* door de Duitse ARBO-instantie geclassificeerd in risicogroep 1. In de Nederlandse ARBO regelgeving is *S. oligofermentans* niet in de lijst opgenomen, maar het genus *Streptococcus* is in risicoklasse 2 ingedeeld. De COGEM heeft, van de streptokokken die zij heeft geclassificeerd, de commensale orale bacterie *S. gordonii* ingeschaald in de laagste pathogeniteitsklasse. De overige geclassificeerde streptokokken heeft zij in klasse 2 ingedeeld.

S. oligofermentans is in 2003 geïsoleerd uit de mondholte van kankerpatiënten, die geen cariës hadden. Uit onderzoek naar de biologische karakteristieken van *S. oligofermentans* leidt de COGEM af dat *S. oligofermentans* een commensale bacterie is die bij veel mensen in de mondholte voorkomt. *S. oligofermentans* veroorzaakt geen cariës, maar remt juist de vorming van cariës door *S. mutans* streptokokken.

Viridans-streptokokken zijn de meest voorkomende oorzaak van endocarditis en worden regelmatig als opportunistische pathogeen geïmpliceerd bij endocarditis.^{14,16} Als orale bacteriën via een wondje in de mond in de bloedbaan terechtkomen, kunnen ze aan hartweefsel hechten

en kan endocarditis ontstaan. Dit gebeurt vaker als het hartweefsel beschadigd is, of als de persoon een lage weerstand heeft. Er is slechts één klinische casus van endocarditis met *S. oligofermentans* gerapporteerd. Hierbij was *S. oligofermentans* aanwezig op de hartklep bij een patiënte zonder opmerkelijke voorafgaande medische historie. Er is daarnaast aangetoond dat *S. oligofermentans* ten opzichte van andere streptokokken weinig plasminogeen bindt, waardoor de ontwikkeling van endocarditis waarschijnlijk wordt beperkt. Om bovengenoemde redenen beschouwt de COGEM endocarditis door *S. oligofermentans* als een opportunistische infectie.

Verder wijst een studie naar een *S. pneumoniae* virulentiefactor erop, dat deze virulentiefactor niet actief is in *S. oligofermentans*.

Advies

Omdat de commensale bacterie *S. oligofermentans* bij veel mensen in de mondholte voorkomt; geen cariës veroorzaakt en cariësvorming door *S. mutans* remt; niet is geassocieerd met een ziektebeeld en er slechts één opportunistische infectie bekend is, en een lagere virulentie heeft dan andere streptokokken, beschouwt de COGEM *S. oligofermentans* als apathogeen. De COGEM adviseert daarom *S. oligofermentans* in te schalen als klasse 1 pathogeen en op Bijlage 1 te plaatsen. Werkzaamheden met *S. oligofermentans* kunnen conform de pathogeniteitsklasse op ML-I inperkingsniveau plaatsvinden.

Referenties

1. Tong H. *et al.* (2003). *Streptococcus oligofermentans* sp. nov., a novel oral isolate from caries-free humans. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* 53:1101-1104
2. Tong H. *et al.* (2007). *Streptococcus oligofermentans* inhibits *Streptococcus mutans* through conversion of lactic acid into inhibitory H₂O₂: a possible counteroffensive strategy for interspecies competition. *Mol. Micr.* 63: 872-880
3. Zhang J. *et al.* (2010). A preliminary study of biological characteristics of *Streptococcus oligofermentans* in oral microecology. *Caries Res.* 44: 345-348
4. Sinner S.W. & Tunkel A.R. (2009). Chapter 203 - Viridans Streptococci, Groups C and G Streptococci, and Gemella Species. In: Principles and practice of infectious diseases. 7th edition. Eds. Mandell G.L. *et al.*
5. Matta M. *et al.* (2009). First case of Streptococcus oligofermentans endocarditis determined based on sodA gene sequences after amplification directly from valvular samples. *J Clin. Micr.* 47:855-856
6. Teles C. *et al.* (2011). The role of streptococcal plasmin(ogen) binding in infective endocarditis. *Eur. J. Clin. Micr. Infect. Dis* 30:127-129
7. Bek-Thomsen M. *et al.* (2012). Occurrence and evolution of the paralogous zinc metalloproteases IgA1 protease, ZmpB, ZmpC, and ZmpD in Streptococcus pneumonia and related commensal species. *mBIO* 3: e00303-12
8. Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen. Mei 2004

9. COGEM (2011). Classificatie apathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-02
10. COGEM (2011). Classificatie pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-03
11. COGEM (2010). Classificatie en inschaling werkzaamheden *Streptococcus suis*. COGEM advies CGM/101123-01
12. COGEM (2007). Uitbreiding Bijlage 1 van de Regeling GGO. COGEM advies CGM/070215-01
13. COGEM (2004). Inschaling van *Streptococcus pneumoniae*. COGEM advies CGM/041110-01
14. COGEM (2007). Classificatie van enkele micro-organismen van bijlage 1 van de Regeling ggo. COGEM advies CGM/070917-02
15. COGEM (2008). Bijlage 1 van de regeling ggo: Classificatie van 14 bacteriën. COGEM advies CGM/080602-03
16. Ge X. *et al.* (2008). Identification of *Streptococcus sanguinis* genes required for biofilm formation and examination of their role in endocarditis virulence. *Inf. Immun.* 76: 2551–2559