

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw W.J. Mansveld
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 28 februari 2014
KENMERK CGM/140228-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Bacteroides xylanisolvens*

Geachte mevrouw Mansveld,

De COGEM heeft de pathogeniteitsclassificatie van *Bacteroides xylanisolvens* en de specifieke stam DSM 23964 tegen het licht gehouden. Zij deelt u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM heeft in 2011 advies uitgebracht over de indeling in pathogeniteitsklassen van een groot aantal bacteriesoorten. Onlangs is haar door derden informatie aangeleverd die de indeling van *Bacteroides xylanisolvens* betwist. Wegens signalen over mogelijk commerciële activiteiten in het buitenland - gebruik van *B. xylanisolvens* stam DSM 23964 als voedingssupplement -, heeft de COGEM besloten tussentijds ongevraagd advies over deze bacteriesoort en in het bijzonder stam DSM 23964 uit te brengen.

B. xylanisolvens is in 2008 voor het eerst beschreven en behoort tot de *B. fragilis* groep. Bacteriesoorten binnen deze groep veroorzaken infecties van de buikholte waarbij abcesvorming optreedt. De infecties kunnen leiden tot bacteriemie met een hoge mortaliteit. Tot voor kort was het niet mogelijk *B. xylanisolvens* in klinische monsters te identificeren.

Aangezien *B. xylanisolvens* tot de *B. fragilis* groep behoort en alle tot nog toe bekende humaan pathogene *Bacteroides* soorten binnen deze groep vallen, sluit de COGEM niet uit dat de klinische relevantie van *B. xylanisolvens* voor de mens tot op heden is ondergewaardeerd. De COGEM ziet geen aanleiding haar advies van 2011 te herzien. Zij is van mening dat *B. xylanisolvens* als een klasse 2 pathogeen beschouwd moet worden.

In vitro en *in vivo* studies met de specifieke *B. xylanisolvens* stam DSM 23964 hebben geen pathogene en toxische eigenschappen aan het licht gebracht. Daarom is de COGEM van mening dat deze stam in pathogeniteitsklasse 1 ingedeeld kan worden.

Pathogeniteitsclassificatie *Bacteroides xylanisolvens*

COGEM advies CGM/140228-02

Inleiding

In 2011 heeft de COGEM advies uitgebracht over de indeling in pathogeniteitsklassen van een groot aantal bacteriesoorten.^{1,2} Zij heeft daarbij aangegeven deze lijst op basis van in de loop der tijd uitgebrachte classificatie-adviezen en op basis van signalen uit het werkveld over mogelijke onjuiste classificaties, periodiek te herzien.

Wegens informatie over mogelijk commerciële activiteiten in het buitenland (Duitsland en Zwitserland) waaruit blijkt dat er tussen landen verschillen in inzicht bestaan over de pathogeniteitsclassificatie van *Bacteroides xylanisolvens*, heeft de COGEM besloten tussentijds ongevraagd advies over deze bacteriesoort uit te brengen.

Bacteroides xylanisolvens

B. xylanisolvens koloniseert de darm van mens, koe en varken, en wordt in feces aangetroffen.^{3,4,5,6} De bacteriesoort is voor het eerst in 2008 beschreven en wordt omschreven als een strikt anaerobe, onbeweeglijke, gramnegatieve staaf die geen hitteresistente endosporen vormt.³ Hoewel *Bacteroides* soorten niet in de aanwezigheid van zuurstof kunnen groeien, zijn zij wel in staat onder een laag zuurstofgehalte te overleven.⁷ Van *B. xylanisolvens* referentiestam XBA1 is in 2010 een voorlopige genomesequentie in het publieke domein gepubliceerd.⁸

B. xylanisolvens behoort tot de *B. fragilis* groep.³ Deze groep bestaat uit meerdere *Bacteroides* soorten en omvat de meest voorkomende anaerobe humaan pathogenen.⁹ De *B. fragilis* groep wordt vooral geïsoleerd bij polymicrobiële infecties van de buikholte waarbij abscesvorming optreedt. Dergelijke infecties zijn geassocieerd met buiktrauma zoals chirurgische ingrepen of darmperforaties, en kunnen leiden tot bacteriëmie.¹⁰ De mortaliteit van de door de *Bacteroides* groep veroorzaakte bacteriëmieën bedraagt tussen de 24 en 100% en is soort afhankelijk.^{9,10} De soort die daarbij het meest wordt geïsoleerd is *B. fragilis*.

Door conventionele en recent ontwikkelde determinatiemethodes te combineren, zijn in 2013 voor het eerst met terugwerkende kracht enkele *B. xylanisolvens* isolaten in klinische monsters beschreven.¹¹ Eerder waren deze isolaten niet als zodanig gedetermineerd omdat de toenmalige beschikbare identificatietechnieken niet toereikend waren. *B. xylanisolvens* werd aangetroffen in bloedkweken, pus afkomstig vanuit de buikholte en een doorligwond. Gegevens over de betrokken patiënten zoals mogelijk onderliggende ziektebeelden zijn in de betreffende studie niet aangeleverd.

Eerder COGEM advies en andere classificaties

In 2007 heeft de COGEM een onderzoeksproject laten uitvoeren naar de pathogeniteitsclassificatie van een groot aantal bacteriesoorten. Daarbij zijn lijsten van 9 beoordelende instanties uit het buitenland met elkaar vergeleken. Op grond van deze vergelijking en op basis van een beoordeling van experts heeft dit vervolgens tot een rapport met uiteindelijke pathogeniteitsclassificaties geleid. Bij haar adviezen in 2011 over de classificatie van (a)pathogene bacteriën heeft de COGEM zich gebaseerd op dit rapport, en heeft

zij *B. xylanisolvans* geclassificeerd als een klasse 2 pathogeen.^{1,2} Helaas zijn een aantal van de in het onderzoeksrapport gebruikte lijsten nu niet meer inzichtelijk of beschikbaar, zoals de lijst van de 'American Type Culture Collection' (ATCC). De ATCC heeft geen *B. xylanisolvans* stammen meer in haar collectie.¹²

De Duitse 'Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAuA) heeft *B. xylanisolvans* in de laagste risicogroep ingedeeld.¹³ In 2013 is bij de 'United States Food and Drug Administration' (US FDA) een aanvraag voor de 'Generally Recognized As Safe' (GRAS) erkenning ingediend voor gepasteuriseerde melkproducten, gefermenteerd met behulp van *B. xylanisolvans* DSM 23964. De FDA heeft deze GRAS notificatie tot op heden nog niet toegekend.¹⁴

Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen

Volgens de Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (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.

Wetenschappelijk gezien is de pathogeniteit van een micro-organisme goed aan te tonen. De afwezigheid van pathogeniteit is echter moeilijk te bewijzen. Daarbij worden gevallen van pathogeniteit gepubliceerd, terwijl er nauwelijks wordt gerapporteerd over de apathogeniteit van micro-organismen. Hierdoor is van veel micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voorhanden. Een lange gedocumenteerde 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 micro-organismen bij afwezigheid van expliciete aanwijzingen voor pathogeniteit bij langdurig gebruik als apathogeen beschouwd.

Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem, worden in de regel eveneens als niet pathogeen beschouwd.

Overweging en advies

De *Bacteroides* soorten binnen de *B. fragilis* groep worden beschouwd als de meest voorkomende humaan anaerobe pathogenen. *B. xylanisolvens* is recent ontdekt. Wegens de ontwikkeling van nieuwe determinatietechnieken is het sinds kort mogelijk om in klinische monsters *B. xylanisolvens* te identificeren en te onderscheiden van de andere species binnen de *B. fragilis* groep. Een voorlopige analyse op de genomsequentie van referentiestam XBA1 brengt geen klassieke virulentie-eigenschappen aan het licht. Aangezien de bacteriesoort tot de *B. fragilis* groep behoort en tot deze groep alle tot nog toe bekende humaan pathogene *Bacteroides* soorten behoren, sluit de COGEM niet uit dat de klinische relevantie van *B. xylanisolvens* voor de mens tot op heden is ondergewaardeerd. Gezien het bovenstaande ziet de COGEM geen aanleiding haar advies van 2011 te herzien. Zij is van mening dat *B. xylanisolvens* als een klasse 2 pathogeen beschouwd moet worden.

De bacteriestam *B. xylanisolvens* DSM 23964 is voor het eerst beschreven in 2012.¹⁵ De stam is geïsoleerd uit de feces van een gezonde vrijwilliger. Over deze stam zijn in de wetenschappelijke literatuur verschillende *in vitro* en *in vivo* studies verschenen.^{15,16,17}

De *in vitro* studies bestonden uit een screening op virulentiedeterminanten die voor het genus *Bacteroides* beschreven zijn, zoals het *B. fragilis* enterotoxine, het kapsel polysaccharide A en bepaalde extracellulaire enzymen.¹⁵ Geen van de virulentiedeterminanten konden in de *B. xylanisolvens* stam DSM 23964 worden aangetoond. Daarnaast bleek de stam gevoelig voor therapeutisch relevante antibiotica.¹⁵ Standaard *in vitro* toxiciteitstesten op mutageniteit en chromosomale afwijkingen lieten geen toxische eigenschappen zien.¹⁶

In vivo studies met muizen en hitte geïnactiverde dan wel levende *B. xylanisolvens* DSM 23964, bestaande uit een voedingstest en een experimenteel intraperitoneaal abcesvormingsmodel, lieten geen schadelijke effecten en ziekteverschijnselen zien.¹⁶ Oraal toegediende hitte geïnactiverde *B. xylanisolvens* DSM 23964 cellen bij gezonde vrijwilligers lieten eveneens geen schadelijke effecten zien.¹⁷

Op basis hiervan is de COGEM van mening dat de specifieke stam *B. xylanisolvens* DSM 23964 geen pathogene en toxische eigenschappen bezit en acht zij de indeling van deze stam in pathogeniteitsklasse 1 gerechtvaardigd. De COGEM wijst er op dat de gegevens verkregen met stam DSM 23964 niet geëxtrapoleerd kunnen worden naar het gehele species *B. xylanisolvens*.

Samenvattend adviseert de COGEM bacteriesoort *B. xylanisolvens* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en de stam *B. xylanisolvens* DSM 23964 in te delen in pathogeniteitsklasse 1.

Het is de COGEM bekend dat buitenlandse bedrijven in Duitsland en Zwitserland goedkeuring proberen te verkrijgen om de stam *B. xylanisolvens* DSM 23964 als voedingssupplement toe te passen. De COGEM wijst erop dat een dergelijke beoordeling niet tot haar takenpakket behoort. Hiervoor zijn andere instanties verantwoordelijk.

Referenties

1. COGEM (2011). Classificatie apathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-02
2. COGEM (2011). Classificatie pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-03
3. Chassard C *et al.* (2008). *Bacteroides xylanisolvens* sp. nov., a xylan-degrading bacterium isolated from human faeces. *Int J of System Evol Microbiol* 58: 1008-1013
4. Qin J *et al.* (2010). A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing. *Nature* 464: 59-67
5. Ziemer CJ (2013). Broad diversity and newly cultured bacterial isolates from enrichment of pig feces on complex polysaccharides. *Microb Ecol* 66: 448-461
6. Ziemer CJ (2014). Newly cultured bacteria with broad diversity isolated from eight-week continuous culture enrichments of cow feces on complex polysaccharides. *Appl Envir Microbiol* 80(2): 574-585
7. Salyers AA & Shoemaker NB (2009). Gram-negative opportunistic anaerobes: Friends and foes. In: *Encyclopedia of Microbiology*. Third edition. Eds Schaechter M *et al.* Academic Press, Elsevier, Oxford (UK)
8. FDP29033.1 (2010). *Bacteroides xylanisolvens* XB1A draft genome. Website bezoek 24 februari 2010. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FP929033.1>
9. Aldridge KE *et al.* (2003). Bacteremia due to *Bacteroides fragilis* group: Distribution of species, β -lactamase production, and antimicrobial susceptibility patterns. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47(1): 148-153
10. Brooke I (2010). The role of anaerobic bacteria in bacteremia. *Anaerobe* (16): 183-189
11. Pedersen RM *et al.* (2013). Species differentiation of *Bacteroides dorei* from *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides ovatus* from *Bacteroides xylanisolvens* - Back to basics. *Anaerobe* 24: 1-3
12. [American Type Culture Collection Bacteria alphanumeric](#). Websitebezoek 14 februari 2014
13. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). Websitebezoek 14 februari 2014. [Bacteroides xylanisolvens](#)
14. U.S. Food and Drug Administration. Websitebezoek 14 februari 2014. GRAS Notice No. 457. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?rpt=grasListing>
15. Ulsemer P *et al.* (2012). Preliminary safety evaluation of a new *Bacteroides xylanisolvens* isolate. *Appl Envir Microbiol* 78(2): 528-535
16. Ulsemer P *et al.* (2012). Safety assessment of the commensal strain *Bacteroides xylanisolvens* DSM 23964. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 62: 336-346
17. Ulsemer P *et al.* (2012). Safety and tolerance of *Bacteroides xylanisolvens* DSM 23964 in healthy adults. *Beneficial Microbes* 3(2): 99-111