

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 21 november 2017
KENMERK CGM/171121-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Paenibacillus chibensis*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier 'Handelingen met *Paenibacillus chibensis*' (IG 17-208_2.8-000), ingediend door het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Paenibacillus chibensis* en de plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'. Bijlage 2, lijst A1 bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-organisme genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan. Activiteiten met deze ggo's kunnen, zonder dat een aanvrager daar een milieuroisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

P. chibensis komt in de bodem voor. Mens, dier en plant komen er veelvuldig mee in aanraking, maar de COGEM heeft geen aanwijzingen dat *P. chibensis* bij deze organismen ziekte veroorzaakt. Daarom is zij van oordeel dat de bacterie niet pathogeen is, en adviseert zij *P. chibensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van mening dat *P. chibensis* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.



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

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Met het oog op eventuele belangenverstrengelingen is het COGEM lid prof. dr. R.A.M. Fouchier niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Paenibacillus chibensis*

COGEM advies CGM/171121-01

Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam (IG 17-208) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Paenibacillus chibensis* en plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-organisme genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (respectievelijk 'lijst A2 veilige vectoren' en 'lijst A3 inserties'). Activiteiten met deze ggo's kunnen, zonder dat een aanvrager daar een milieurisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden in de Regeling ggo 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. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

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

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

Een indeling in pathogeniteitsklasse 3 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in pathogeniteitsklasse 4 is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

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 één van de bovengenoemde voorwaarden van pathogeniteitsklasse 1 is voldaan, op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo¹ geplaatst worden.

Paenibacillus

Het genus *Paenibacillus* behoort tot de familie van de *Paenibacillaceae*.^{2,3} Eerder werden bacteriën binnen dit genus onder de familie van de *Bacillaceae* geschaard, waartoe ook het bacteriegeslacht *Bacillus* behoort.^{4,5,6,7,8} *Paenibacillus* omvat staafvormige, beweeglijke, grampositieve bacteriën die endosporen kunnen vormen.^{4,7,9} Deze sporen overleven extreme condities, zoals hoge en lage temperaturen, hoge druk, UV-straling en biociden.⁹

Paenibacilli komen over de gehele wereld in de bodem voor, en bevorderen door middel van stikstof- en fosforfixatie de plantengroei.⁹ Chemische verbindingen die door deze bacteriën geproduceerd worden, kennen toepassingen binnen de biotechnologie en chemische industrie (enzymen), de farmaceutische industrie (antimicrobiële middelen), en de landbouw (insecticiden, biociden, kunstmest). Veel van deze toepassingen zijn gepatenteerd.⁹

Sommige *Paenibacillus* soorten zijn pathogeen voor ongewervelden (insecten en slakken), waaronder *Paenibacillus apiarius*, *Paenibacillus glabratella*, *Paenibacillus larvae*, *Paenibacillus lentimorbus* en *Paenibacillus popilliae*.⁹ Van enkele soorten is bekend dat zij Cry eiwitten produceren (*P. lentimorbus* en *P. popilliae*). Deze eiwitten hebben insecticide eigenschappen en kennen toepassingen binnen de landbouw. Andere *Paenibacillus* soorten veroorzaken voedselbederf in vooral zuivelproducten. De endosporen kunnen de extreme condities die tijdens het bewerkingsproces optreden (pasteurisatie, desinfectie van apparatuur), overleven.^{9,10} Ook veroorzaken diverse soorten als opportunistisch pathogeen ziekte bij patiënten met een verzwakte weerstand (*Paenibacillus alvei*, *Paenibacillus massliensis*, *Paenibacillus provencensis*, *Paenibacillus sanguinis*, *Paenibacillus timonensis*, *Paenibacillus turicensis*, *Paenibacillus urinalis*).⁹

Paenibacillus chibensis

In 1997 is *P. chibensis* voor het eerst in de wetenschappelijke literatuur beschreven. Op basis van fenotypische en genotypische kenmerken bleek *Paenibacillus amylolyticus* feitelijk te bestaan uit drie verschillende soorten: *P. amylolyticus* sensu stricto, *P. chibensis* en *Paenibacillus lautus*.

P. chibensis is strikt aerob en vormt endosporen.⁷ In de literatuur wordt eenmalig melding gemaakt van twee *P. chibensis* stammen: NRRL B-142 en NRRL B-14939.⁷ Van NRRL B-142 is bekend dat

deze uit de bodem is geïsoleerd.^{11,12} Over de herkomst van NRRL B-14939 zijn geen gegevens inzichtelijk. Op basis van 16S rDNA analyse is aangetoond dat *P. chibensis* in meren met een lage zuurgraad voorkomt. Deze meren zijn ten gevolge van de open mijnbouw ontstaan ('acidic mining lakes').¹³

Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *P. chibensis*. Wel heeft zij geadviseerd over *P. larvae*, *P. lentimorbus* en *P. popilliae*, en deze als strikt dierpathogenen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.¹⁴

Classificaties door andere beoordelende instanties

De 'American Type Culture Collection' (ATCC) en de Duitse 'Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen' (DSMZ) hebben activiteiten met *P. chibensis* ingedeeld op het BSL1 veiligheidsniveau.^{12,15} De 'Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAUA) en Het Zwitserse 'Federal Office for the Environment' (FOEN) hebben *P. chibensis* ingedeeld in de laagste risicogroep (groep 1).^{16,17} De ATCC, DSMZ en het BAUA beoordelen pathogeniteit voor de mens. De FOEN neemt pathogeniteit voor mens, dier en plant in ogenschouw.

Overweging en advies

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 bacteriën weinig literatuur over apathogeniteit voor handen.

Bacteriën binnen het genus *Paenibacillus* komen wereldwijd in de bodem voor. Mens, dier en plant komen er veelvuldig mee in aanraking. Een aantal soorten binnen het genus is pathogeen voor ongewervelde dieren en een aantal soorten veroorzaakt incidenteel opportunistische infecties bij de mens. Dit betreft patiënten met een onderliggend ziektebeeld, of patiënten bij wie de natuurlijke barrière doorbroken is (aangebrachte katheters, intraveneuze of arteriële lijnen; besmette desinfectantia of infuusvloeistoffen).

P. chibensis komt eveneens voor in de bodem en is waarschijnlijk wereldwijd aanwezig. Er zijn geen publicaties bekend waarin *P. chibensis* aangemerkt wordt als ziekteverwekkend voor mens, dier of plant. Op basis hiervan is de COGEM van oordeel dat de bacterie niet pathogeen is en voldoet aan de eerste van de vier criteria voor plaatsing in pathogeniteitsklasse 1. Zij adviseert daarom *P. chibensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van mening dat *P. chibensis* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezoekt: 16 november 2017)

2. Euzéby J (2010). List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 60: 469-472
3. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. www.bacterio.net/-allnamesmr.html (bezocht: 9 november 2017)
4. Nakamura LK (1984). *Bacillus amylolyticus* sp. nov., nom. rev., *Bacillus lautus* sp. nov., norn. rev., *Bacillus pabuli* sp. nov., norn. rev., and *Bacillus validus* sp. nov., norn. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 34: 224-226
5. Ash C *et al.* (1993). Molecular identification of rRNA group 3 bacilli (Ash, Farrow, Wallbanks, and Collins) using a PCR probe test. Proposal for the creation of a new genus *Paenibacillus*. *Antonie van Leeuwenhoek* 64: 253-260
6. Heyndrickx M *et al.* (1996). A polyphasic reassessment of the genus *Paenibacillus*, reclassification of *Bacillus lautus* (Nakamura 1984) as *Paenibacillus lautus* comb. nov. and *Bacillus peoriae* (Montefusco *et al.* 1993) as *Paenibacillus peoriae* comb. nov., and emended description of *P. lautus* and *P. peoriae*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 46: 988-1003
7. Shida O *et al.* (1997). Emended description of *Paenibacillus amylolyticus* and description of *Paenibacillus illinoisensis* sp. nov. and *Paenibacillus chibensis* sp. nov.. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 299-306
8. Xu D & Cote J-C (2003). Phylogenetic relationships between *Bacillus* species and related genera inferred from comparison of 3' end 16S rDNA and 5' end 16S-23S ITS nucleotide sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53: 695-704
9. Grady EN *et al.* (2016). Current knowledge and perspectives of *Paenibacillus*: a review. *Microbial Cell Factories* 15: 203-221
10. Gopal N *et al.* (2015). The prevalence and control of *Bacillus* and related spore-forming bacteria in the dairy industry. *Front. Microbiol.* 6: 1418-1436
11. National Centre for Agricultural Utilization Research. NRRL Agricultural Research Service Culture Collection <https://nrrl.ncaur.usda.gov/> (bezocht: 10 november 2017)
12. American Type Culture Collection. www.lgcstandards-atcc.org/Products/Cells_and_Microorganisms/Bacteria.aspx (bezocht: 9 november 2017)
13. Wenderoth DF & Abraham W-R (2005). Microbial indicator groups in acidic mining lakes. *Environ. Microbiol.* 7: 133-139
14. COGEM (2017). Actualisatie van de lijsten met de indeling in pathogeniteitsklassen van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/170923-03
15. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen. www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html (bezocht: 9 november 2017)
16. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (2015). Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe. www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html (bezocht: 9 november 2017)
17. Federal Office for the Environment (2013). Classification of organisms. www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html (bezocht: 9 november 2017)