

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

DATUM 10 januari 2018
KENMERK CGM/180110-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de anaerobe thermofiele bacterie
Thermincola potens

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van Syngip B.V. om de bacterie *Thermincola potens* op Bijlage 2, lijst A1 te plaatsen (IG 17-244_2.13-000) deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:


De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Thermincola potens* en de plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'. Opname op Bijlage 2, lijst A1, betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende 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 milieuriscobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden. De bacterie groeit goed bij afwezigheid van zuurstof. De bacteriesoort *T. potens* is geïsoleerd uit een biobrandstofcel.

De bacterie heeft een groeioptimum bij 55°C of hoger en groeit niet bij 37°C. Deze hoge groeitemperatuur maakt het onwaarschijnlijk dat *T. potens* pathogeen is voor mens of dier. Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat *T. potens* pathogeen is voor mens, dier of plant. Zij adviseert daarom *T. potens* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in 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 IenW

Pathogeniteitsclassificatie van de anaerobe thermofiele bacterie

Thermincola potens

COGEM advies CGM/180110-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van Syngip B.V. (IG 17-244) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Thermincola potens* 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 gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende 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.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling 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.

3. Beschrijving van het organisme

3.1 *Thermincola potens*

T. potens behoort tot het geslacht *Thermincola*. Alle tot nu toe bekende bacteriën die tot dit geslacht behoren zijn anaerobe, grampositieve, thermofiele bacteriën.^{2,3,4} *T. potens* is geïsoleerd uit een, bij hoge temperatuur (55°C) opererende, biobrandstofcel ofwel 'microbial fuel cell' (MFC) die was geïnoculeerd met 'anaerobic digester sludge'.^{2,5} In een MFC wordt chemische energie omgezet in elektrische energie, doordat micro-organismen organische materialen oxideren.⁶ *T. potens* behoort tot de groep van dissimilerende metaal-reducerende bacteriën (DMRB), welke anaerobe dissimilatie kunnen uitvoeren met behulp van metaal als terminale elektronenacceptor in plaats van zuurstof.⁷ *T. potens* koppelt acetaatoxidatie aan reductie van onoplosbare elektronenacceptoren (MFC anodes en ijzer(III)oxide-hydroxide (HFO)).^{2,5,8} De bacterie kan groeien met koolstofmonoxide als enige elektrondonor en koolstofbron.²

De aanvrager heeft de groei van *T. potens* bij verschillende temperaturen (37, 40, 45 en 55°C) getest. De resultaten laten zien dat *T. potens* tussen 40 en 55°C kan groeien en dat het optimum bij 55°C of hoger ligt. Verder laten de resultaten van de aanvrager zien dat de aanwezigheid van kleine hoeveelheden zuurstof (100 ppm) de groei van de anaerobe bacterie aanzienlijk remt.

Het genoom van *T. potens* is volledig gesequenced.^{2,9} De aanvrager heeft BLAST analyses uitgevoerd waarbij de genomsequentie van *T. potens* is vergeleken met bacteriële toxinesequenties. Volgens de aanvrager laten de resultaten zien dat *T. potens* geen genen bezit die coderen voor bekende bacteriële toxines.

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft onlangs geadviseerd over twee soorten behorende tot het genus *Thermincola*, namelijk de soorten *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila*. De COGEM heeft deze twee soorten als apathogeen geclassificeerd (pathogeniteitsklasse 1).¹⁰

5. 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.

T. potens is een anaerobe bacterie met een hoge groeitemperatuur (thermofiel). De resultaten uit een groeitest bij verschillende temperaturen (37, 40, 45 en 55°C), uitgevoerd door de aanvrager, laten zien

dat *T. potens* tussen 40 en 55°C kan groeien en dat het optimum bij 55°C of hoger ligt. Deze hoge groeitemperatuur maakt het onwaarschijnlijk dat *T. potens* pathogeen is voor mens of dier. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *T. potens* pathogeen is voor mens, dier of plant. Ook zijn er bij de COGEM geen publicaties bekend waarin melding wordt gemaakt dat de bacterie over toxische eigenschappen beschikt.

Op basis hiervan is de COGEM van oordeel dat *T. potens* niet pathogeen is. Zij adviseert daarom *T. potens* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van mening *T. potens* 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: 12 december 2017)
2. Byrne-Bailey KG *et al.* (2010). Complete genome sequence of the electricity-producing "*Thermincola potens*" strain JR. *J. Bacteriol.* 192: 4078-4079
3. Zavarzina DG *et al.* (2007). *Thermincola ferriacetica* sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic bacterium capable of dissimilatory Fe(III) reduction. *Extremophiles* 11: 1-7
4. Sokolova TG *et al.* (2005). *Thermincola carboxydiphila* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, carboxydophilic, hydrogenogenic bacterium from a hot spring of the Lake Baikal area. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 2069-2073
5. Wrighton KC *et al.* (2008). A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells. *ISME J.* 2: 1146-1156
6. Costa NL *et al.* (2015). Heterologous expression and purification of a multiheme cytochrome from a Gram-positive bacterium capable of performing extracellular respiration. *Protein Expr. Purif.* 111: 48-52
7. Lloyd JR (2003). Microbial reduction of metals and radionuclides. *FEMS Microbiol. Rev.* 27: 411-425
8. Wrighton KC *et al.* (2011). Evidence for direct electron transfer by a gram-positive bacterium isolated from a microbial fuel cell. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 7633-7639
9. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/296131550/> (bezoekt: 20 december 2017).
10. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van de bacteriën *Thermosinus carboxydivorans*, *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila*. COGEM advies CGM/171222-01