

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

**DATUM** 30 mei 2018  
**KENMERK** CGM/180530-04  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Mycobacterium thermoresistibile*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van het Leids Universitair Medisch Centrum om de bacterie *Mycobacterium thermoresistibile* op Bijlage 4 van de Regeling ggo te plaatsen (IG 18-078\_2.8-000) deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Mycobacterium thermoresistibile* en de inschaling van werkzaamheden met deze bacterie.

*M. thermoresistibile* is een non-tuberculeuze mycobacterie en heeft een optimale groeitemperatuur van 52°C. Sinds de ontdekking van deze bacterie meer dan 50 jaar geleden is een beperkt aantal gevallen beschreven van infectie met *M. thermoresistibile* in mensen. Op een enkele uitzondering na, infecteerde *M. thermoresistibile* individuen met een gedocumenteerd onderliggend ziektebeeld of als complicatie na een chirurgische ingreep.

Aangezien *M. thermoresistibile* wereldwijd voorkomt en infecties in mensen sporadisch en opportunistisch van aard zijn, beschouwt de COGEM *M. thermoresistibile* als een opportunistisch humaan pathogeen. Zij adviseert daarom om *M. thermoresistibile* in te delen in pathogeniteitsklasse 1, en op te nemen op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo, die bestaat uit een lijst van apathogene gastheerorganismen. Dientengevolge is de COGEM van oordeel dat vanuit het oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu, de voorgenomen werkzaamheden met *M. thermoresistibile* uitgevoerd kunnen worden op ML-I. Onder de genoemde voorwaarden acht de COGEM de risico's voor mens en milieu van de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein.



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

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap  
Vorzitter COGEM

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

# **Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met de bacterie *Mycobacterium thermoresistibile***

## **COGEM advies CGM/180530-04**

### **1. Inleiding**

Naar aanleiding van een verzoek van het Leids Universitair Medisch Centrum (IG 18-078) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Mycobacterium thermoresistibile* en plaatsing van deze bacterie op Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup> Deze bijlage bestaat uit lijsten van micro-organismen die pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Daarnaast is de COGEM gevraagd om te adviseren over inschaling van werkzaamheden waarbij *M. thermoresistibile* wordt getransformeerd met een plasmide met reporter genen die coderen voor fluorescente eiwitten.

### **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.

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 ggo<sup>1</sup> geplaatst worden. Bijlage 2, lijst A1 bestaat uit een lijst van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op deze lijst betekent dat onder ML-I laboratoriumrestricties met het betreffende micro-organisme ggo's vervaardigd mogen worden, indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (lijst A2 veilige vectoren en lijst A3 inserties).

### 3. Mycobacteriën

Het genus *Mycobacterium* behoort tot de familie der *Mycobacteriaceae*.<sup>2,3</sup> Mycobacteriën zijn zuurvaste staafvormige bacteriën, die beschikken over een dikke celwand met een hoog gehalte aan vetzuren.<sup>4</sup> Deze celwand biedt bescherming tegen uitdroging, antimicrobiële agentia, hoge temperaturen en lage zuurgraden.<sup>4</sup> Mycobacteriën zijn alom tegenwoordig in het milieu en worden aangetroffen in onder meer de bodem, stof en water.<sup>4,5,6,7</sup> Tevens kunnen de bacteriën biofilms vormen.<sup>5</sup>

Het genus *Mycobacterium* omvat zowel pathogene als apathogene bacteriesoorten. Voorbeelden van pathogene soorten zijn *Mycobacterium tuberculosis*, de verwekker van de longziekte tuberculose (TBC), en *Mycobacterium leprae*, de verwekker van lepra. Jaarlijks sterven er miljoenen mensen aan TBC.<sup>8,9</sup> Mycobacteriën die longinfecties met TBC-achtige ziekteverschijnselen veroorzaken, maar niet tot de soort *M. tuberculosis* behoren, worden 'atypische' of non-tuberculeuze mycobacteriën genoemd.<sup>10,11</sup> In het algemeen wordt aangenomen dat pathogene mycobacteriën langzamer groeien en een kleiner genoom hebben dan apathogene mycobacteriën.<sup>12</sup>

#### 3.1 *Mycobacterium thermoresistibile*

*M. thermoresistibile* is een non-tuberculeuze, thermoresistente bacterie die kan groeien bij 52°C. De bacterie werd in 1966 voor het eerst aangetoond in een bodemmonster in Japan.<sup>13</sup> Sinds de identificatie van *M. thermoresistibile* meer dan 50 jaar geleden, is een beperkt aantal gevallen beschreven van humane infecties met deze bacterie. Een infectie met *M. thermoresistibile* in de huid of in de luchtwegen werd aangetoond in de Verenigde Staten in patiënten die een chirurgische ingreep hadden ondergaan vanwege een armbreuk,<sup>14</sup> knieervanging,<sup>15</sup> borstvergroting<sup>16</sup> of harttransplantatie.<sup>17</sup> In twee van deze gevallen was er tevens sprake van diabetes mellitus als een

aanwijsbaar onderliggend ziektebeeld.<sup>15,17</sup> Een long- en luchtweginfectie met *M. thermoresistibile* is daarnaast aangetroffen in een immuungecompromitteerd individu met ‘common variable immunodeficiency’.<sup>18</sup> Tevens is een publicatie verschenen over een co-infectie van *M. thermoresistibile* en *M. fortuitum* in de huid, vermoedelijk als gevolg van verwonding met tuingereedschap waarop een ongedefinieerd type mest aanwezig was.<sup>19</sup>

Een luchtweginfectie met *M. thermoresistibile* is ook gerapporteerd in een vijfjarig kind in Iran. De auteurs waren van oordeel dat het kind (immunologisch) gezond zou zijn. Dit kan sterk betwijfeld worden aangezien bij het kind Langerhanscelhistiocytose gediagnosticeerd was. Deze ziekte kenmerkt zich door een maligne woekering van Langerhanscellen, immuuncellen betrokken bij de presentatie van antigenen aan T-cellen.<sup>20</sup>

In een publicatie van Weitzman *et al.* (1981) wordt een luchtweginfectie beschreven in een ogenschijnlijk gezond individu, waarbij het aannemelijk was dat de infectie veroorzaakt werd door *M. thermoresistibile*. De bron van infectie kon niet met zekerheid vastgesteld worden, maar de mogelijkheid werd geopperd dat de infectie optrad na een bezoek aan ‘hot springs’ op Hawaii. De route van infectie was onbekend.<sup>21</sup>

#### **4. Eerder COGEM advies**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *M. thermoresistibile*. Wel heeft zij een groot aantal andere mycobacteriën geïnclassificeerd, voor het overgrote deel in pathogeniteitsklasse 2.<sup>22</sup> Een uitzondering hierop vormen *M. africanum*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. microti*, *M. tuberculosis* en *M. ulcerans*. Deze mycobacteriën zijn door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.<sup>22</sup> *M. neoaurum* wordt door de COGEM beschouwd als opportunistisch pathogeen en is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.<sup>23</sup>

#### **5. Classificaties door andere beoordelende instanties**

De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC) die pathogeniteit voor de mens in ogenschouw neemt, heeft *M. thermoresistibile* ingedeeld op biosafety level (BSL) 1.<sup>24</sup> De ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAuA) die eveneens pathogeniteit voor de mens beoordeelt, heeft *M. thermoresistibile* als een apathogeen ingedeeld in de laagste risicogroep (groep 1), met de opmerking dat er gevallen zijn beschreven van ziekte bij mens en andere gewervelde dieren, aantoonbaar of vermoed, voornamelijk in gevallen van aanzienlijke immuundeficiëntie, waarbij de juiste identificatie van het micro-organisme niet altijd vaststaat.<sup>25</sup>

De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

#### **6. Overweging en advies**

##### **6.1 Pathogeniteitsclassificatie**

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 voorhanden.

Uit de beschikbare publicaties over *M. thermoresistibile* blijkt dat de bacterie wereldwijd voorkomt. Aangenomen kan worden dat mens, dier en plant veelvuldig met de bacterie in aanraking komen. Sinds de identificatie van de bacterie meer dan 50 jaar geleden is een beperkt aantal infecties met *M. thermoresistibile* in mensen beschreven. In deze sporadische gevallen trad infectie met de bacterie op in individuen met een onderliggend ziektebeeld en/of na een chirurgische ingreep, of tijdens een co-infectie met een andere mycobacteriesoort. Tezamen wijzen deze publicaties erop dat humane infecties met *M. thermoresistibile* sporadisch en opportunistisch van aard zijn. Er zijn geen aanwijzingen dat de infectie naar andere mensen overgedragen wordt.

Eén publicatie maakte gewag van een longinfectie met *M. thermoresistibile* in een ogenschijnlijk gezond individu.<sup>21</sup> De COGEM merkt op dat in deze publicatie de bron van infectie ('hot springs' op Hawaii), noch de route van infectie in deze publicatie met zekerheid zijn vastgesteld. Daarnaast zijn in deze publicatie geen gegevens weergegeven die de immunocompetentie van de patiënt ondersteunen, noch worden er enige follow-up gegevens aangeleverd. De COGEM kan daarom geen conclusies verbinden aan deze studie met betrekking tot de pathogeniteit van *M. thermoresistibile*.

Het genoom van *M. thermoresistibile* stammen is gesequenced en is substantieel kleiner dan van vergelijkbare Mycobacterium soorten.<sup>26</sup> Een globale analyse van de >4800 mogelijke geannoteerde eiwitten wijst op de aanwezigheid van een aantal eiwitten die kunnen behoren bij de 'virulence factor mce family'. Echter, de verdeling van mce (mammalian cell entry) operons in zowel pathogene als apathogene mycobacteriën suggereren dat de aanwezigheid van deze hypothetische virulentiegenen geen indicator zijn voor de pathogeniteit van de mycobacteriën.<sup>27</sup>

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *M. thermoresistibile* een opportunistisch pathogeen is. Zij adviseert daarom *M. thermoresistibile* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Dientengevolge is de COGEM van oordeel dat *M. thermoresistibile* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Met dit advies wijkt de COGEM af van het voorstel van de aanvrager, welke *M. thermoresistibile* overigens eveneens als opportunistisch pathogeen beschouwt, en Bureau GGO om deze bacterie in pathogeniteitsklasse 2 in te delen, en op Bijlage 4 van de Regeling ggo te plaatsen.

## **6.2 Inschaling van werkzaamheden**

Uit het oogpunt van veiligheid voor mens en milieu is de COGEM van oordeel dat de voorgenomen werkzaamheden, waarbij *M. thermoresistibile* wordt getransformeerd met een plasmide met reporter genen die coderen voor fluorescente eiwitten, uitgevoerd kunnen worden op ML-I.

De COGEM signaleert dat niet uitgesloten kan worden dat tijdens de voorgenomen werkzaamheden, via verwondingen van de huid, een opportunistische infectie met *M. thermoresistibile* zich in een sporadisch geval kan voordoen. Vanuit ARBO-overwegingen kan de COGEM daarom instemmen met het voorstel van de aanvrager om bij de werkzaamheden handschoenen te dragen ter bescherming van de medewerker. In dat licht wil de COGEM de aanvrager ter overweging geven om handelingen met 'sharps' tijdens de voorgenomen werkzaamheden tot een minimum te beperken.

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezocht: 23 mei 2018)
2. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). [www.bacterio.net/mycobacterium.html](http://www.bacterio.net/mycobacterium.html) (bezocht: 23 mei 2018)
3. Skerman VBD *et al.* (1980). Approved lists of bacterial names. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 30: 225-420
4. Saier MH (2009). Cell structure chemical composition. In: *Encyclopedia of Microbiology*. Third edition. Ed. Schaechter M, Academic Press, Elsevier, Oxford (UK)
5. De Groot MA & Huitt G (2006). Infections due to rapidly growing mycobacteria. *Clin. Infect. Dis.* 42: 1756-1763
6. Marscheck WJ *et al.* (1972). Microbial degradation of sterols. *App. Microbiol.* 23: 72-77
7. Tsukamura M *et al.* (1983). Numerical taxonomy of rapidly growing, scotochromogenic mycobacteria of the *Mycobacterium parafortuitum* complex: *Mycobacterium austroafricanum* sp. nov. and *Mycobacterium diernhoferi* sp. nov., nom. Rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 33: 460-469
8. Fitzgerald DW *et al.* (2016). *Mycobacterium tuberculosis*. In: *Principles and practice of infectious diseases*. Eighth edition. Eds Bennett JE *et al.* Elsevier. <https://expertconsult.inkling.com/store/book/mandell-douglas-bennetts-infectious-diseases-8/> (bezocht: 23 mei 2018)
9. WHO (2018). Tuberculosis. Factsheet. [www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/) (bezocht: 23 mei 2018)
10. Stout JE *et al.* (2016). Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. *Int. J. Infect. Dis.* 45: 123-134
11. Lai CC *et al.* (2010). Increasing Incidence of nontuberculous mycobacteria, Taiwan, 2000–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 294-296
12. Rahman SA *et al.* (2014). Comparative analyses of nonpathogenic, opportunistic, and totally pathogenic mycobacteria reveal genomic and biochemical variabilities and highlight the survival attributes of *Mycobacterium tuberculosis*. *MBio.* 5. doi: 10.1128/mBio.02020-14
13. Tsukamura M (1966). *Mycobacterium thermoresistibile*: a new species (preliminary report). *Med. Biol.* 72: 187-190
14. Suy F *et al.* (2013). Infection due to *Mycobacterium thermoresistibile*: a case associated with an orthopedic device. *J. Clin. Microbiol.* 51: 3154-3156
15. LaBombardi VJ *et al.* (2005). *Mycobacterium thermoresistibile* infection following knee-replacement surgery. *J. Clin. Microbiol.* 43: 5393-5394
16. Wolfe JM & Moore DF (1992). Isolation of *Mycobacterium thermoresistibile* following augmentation mammoplasty. *J. Clin. Microbiol.* 30: 1036-1038
17. Neeley SP & Denning DW (1989). Cutaneous *Mycobacterium thermoresistibile* infection in a heart transplant recipient. *Rev. Infect. Dis.* 11: 608-611

18. Liu F *et al.* (1984). *Mycobacterium thermoresistibile* infection in an immunocompromised host. J. Clin. Microbiol. 19: 546-547.
19. Cummings GH *et al.* (2000). *Mycobacterium thermoresistibile* recovered from a cutaneous lesion in an otherwise healthy individual. Clin. Infect. Dis. 31: 816-817
20. Boloorsaz MR *et al.* (2006). *Mycobacterium thermoresistibile* infection in a child. Tannafos. 5: 61-63
21. Weitzman I *et al.* (1981). *Mycobacterium thermoresistibile*: a new pathogen for humans. J. Clin. Microbiol. 14: 593-595
22. COGEM (2017). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties groot aantal bacteriën. COGEM advies CGM/170929-03
23. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van *Mycobacterium neoaurum*. COGEM advies CGM/170626-01
24. American Type Culture Collection (ATCC). *Mycobacterium thermoresistibile*. [https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/19527.aspx?geo\\_country=nl#generalinformation](https://www.lgcstandards-atcc.org/products/all/19527.aspx?geo_country=nl#generalinformation) (bezocht: 23 mei 2018)
25. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). *Mycobacterium thermoresistibile*. TRBA 466 "Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen". [https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf;jsessionid=48D660FD0283709A577F08DE51D1B3E2.s1t2?\\_blob=publicationFile&v=3](https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf;jsessionid=48D660FD0283709A577F08DE51D1B3E2.s1t2?_blob=publicationFile&v=3) (bezocht: 23 mei 2018)
26. Katahira K *et al.* (2016). Draft Genome Sequences of Five Rapidly Growing *Mycobacterium* Species, *M. thermoresistibile*, *M. fortuitum* subsp. *acetamidolyticum*, *M. canariasense*, *M. brisbanense*, and *M. novocastrense*. Genome Announc. 26;4. pii: e00322-16
27. Interpro. Protein sequence analyses & classification. Virulence factor Mce protein (IPR005693). <https://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR005693> (bezocht: 23 mei 2018).