

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

DATUM 13 juni 2018
KENMERK CGM/180613-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Mycobacterium hassiacum*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van het Leids Universitair Medisch Centrum om de bacterie *Mycobacterium hassiacum* op Bijlage 2, Lijst A1 van de Regeling ggo te plaatsen (IG 18-076_2.13-000) deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

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

M. hassiacum is een non-tuberculeuze, gepigmenteerde, snelgroeiende en thermotolerante mycobacterie. *M. hassiacum* kan groeien tussen 30 en 65°C en is uniek onder de mycobacteriën vanwege de extreme warmtetolerantie (groei bij >60°C). De bacterie is voor het eerst beschreven in 1997. Recent is op basis van een uitgebreide fylogenetische studie een nieuwe naam voor deze bacterie voorgesteld, namelijk *Mycolicibacterium hassiacum*.

Infecties met *M. hassiacum* in mensen komen zelden voor, en alleen bij patiënten met een onderliggend ziektebeeld of verstoord immuunsysteem. De COGEM heeft geen redenen om aan te nemen dat *M. hassiacum* ziekte bij gezonde mensen, dieren of planten veroorzaakt. Daarom beschouwt de COGEM *M. hassiacum* als een opportunistisch humaan pathogeen. Zij adviseert om *M. hassiacum* 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.



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 van de bacterie *Mycobacterium hassiacum*

COGEM advies CGM/180613-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van het Leids Universitair Medisch Centrum (IG 18-076) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Mycobacterium hassiacum* 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.

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.

3. Mycobacteriën

Het genus *Mycobacterium* behoort tot de familie der *Mycobacteriaceae*.^{2,3} Mycobacteriën zijn zuurvaste staafvormige bacteriën, die beschikken over een dikke celwand met een hoog gehalte aan vetzuren.⁴ Deze celwand biedt bescherming tegen uitdroging, antimicrobiële agentia, hoge temperaturen en lage zuurgraden.⁴ Ook kunnen de bacteriën biofilms vormen.⁵ Mycobacteriën komen overal voor, zoals in de bodem, in stof en in water.^{4,5,6,7} Grofweg kunnen soorten uit het genus *Mycobacterium* onderverdeeld worden in snelgroeiende soorten (bacteriën die minder dan 7 dagen nodig hebben om kolonies te vormen) en langzaam groeiende soorten (bacteriën die meer dan 7 dagen nodig hebben om kolonies te vormen).⁸

Het genus *Mycobacterium* omvat zowel pathogene als apathogene bacteriesoorten. Voorbeelden van pathogene soorten zijn *M. tuberculosis*, de verwekker van de longziekte tuberculose (TBC), en *M. leprae*, de verwekker van lepra. Jaarlijks sterven er miljoenen mensen aan TBC.^{9,10} Mycobacteriën die longinfecties met TBC-achtige ziekteverschijnselen veroorzaken, maar niet tot de soort *M. tuberculosis* behoren, worden 'atypische' of non-tuberculeuze mycobacteriën genoemd.^{11,12} In het algemeen wordt aangenomen dat pathogene mycobacteriën langzamer groeien en een kleiner genoom hebben dan apathogene mycobacteriën.¹³

4. *Mycobacterium hassiacum*

M. hassiacum is een gepigmenteerde, snelgroeiende, non-tuberculeuze, thermotolerante bacterie die in staat is om te groeien bij temperaturen tussen de 30 en 65°C.¹⁴ De mogelijkheid om bij temperaturen hoger dan 60°C te groeien, maakt *M. hassiacum* uniek onder de mycobacteriën. Op basis van een uitgebreide genomische fylogenetische studie is recent het voorstel gedaan om het genus *Mycobacterium* onder te verdelen in 5 aparte genera; *Mycobacterium* (behouden voor de bekende (tuberculeuze) humane pathogenen), *Mycolicibacterium* gen. nov., *Mycolicibacter* gen. nov., *Mycolicibacillus* gen. nov., en *Mycobacteroides* gen. nov..⁸ Op basis van deze onderverdeling is een nieuwe classificatie van *M. hassiacum* voorgesteld, namelijk: *Mycolicibacterium hassiacum* comb. nov..

M. hassiacum is in 1997 voor het eerst beschreven nadat de bacterie (stam 3849, DSM 44199) geïsoleerd was uit urine van een patiënt met een urogenitale infectie.¹⁵ De bacterie was volgens de auteurs en betrokken klinici niet pathogeen voor de patiënt. In een publicatie uit 1998 wordt melding gemaakt van de isolatie van *M. hassiacum* uit een patiënt gehospitaliseerd vanwege een terugkerende blaasontsteking.¹⁶ De patiënt is door de auteurs beschreven als immuuncompetent, maar heeft een geschiedenis van astma en een hoge bloeddruk. In eerste instantie werd *M. tuberculosis* aangetoond in de urine, en na enkele weken was ook *M. hassiacum* aanwezig in een urinemonster. Volgens de auteur is de klinische relevantie lastig aan te tonen, en is contaminatie van klinische monsters ook een mogelijkheid.¹⁴ In 2013 is in Australië onderzoek gedaan naar aanwezigheid van non-tuberculeuze mycobacteriën in patiënten met peritonitis (buikvliesontsteking) na peritoneale dialyse. Van de 12 gevallen met peritonitis werd in één patiënt aanwezigheid van *M. hassiacum* aangetoond.¹⁷ Ook is in een andere patiënt aanwezigheid van de opportunist *Mycobacterium neoaurum*¹⁸ aangetoond. In 2018 is *M. hassiacum* geïsoleerd uit de longen van een 70-jarige patiënt met COPD en comorbiditeiten, waaronder diabetes type II en leververvetting.¹⁹ *M. hassiacum* is in één van de drie sputummonsters geïsoleerd. De onderzoekers konden op basis van deze resultaten geen definitieve uitspraak doen of *M. hassiacum* daadwerkelijk ziekteverwekkend is. Daarnaast is *M. hassiacum* ook een enkele keer aangetoond in fecale monsters van gezond, geslacht vee.²⁰

Het genoom van *M. hassiacum* DSM44199 (de referentiestam) is gesequenced in 2012.²¹ De genomgrootte is circa 5Mbp, en heeft een ‘G+C content’ van 69,45%. Het genoom bevat circa 5000 open reading frames (ORFs), waarvan voor 62% van de ORFs een functie bekend is.

5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *M. hassiacum*. Wel heeft zij een groot aantal andere mycobacteriën geïsoleerd, voor het overgrote deel in pathogeniteitsklasse 2.²² Een uitzondering hierop vormen *M. africanum*, *M. bovis*, *M. leprae*, *M. microti*, *M. tuberculosis* en *M. ulcerans*. Deze mycobacteria zijn door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.²² *M. neoaurum* en *M. thermoresistibile* worden door de COGEM beschouwd als opportunistisch pathogenen en zijn beide ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.^{18,23}

6. Classificaties door andere beoordelende instanties

M. hassiacum is door de Duitse ‘Sammlung von Mikroorganismen und Zellculturen’ (DSMZ) ingedeeld in de laagste risicogroep (RG1).²⁴ Deze classificatie is gebaseerd op pathogeniteit voor mens, dier en plant. Het Zwitserse ‘Federal Office for the Environment’ (FOEN)²⁵ welke ook de pathogeniteit voor mens, dier en plant in ogenschouw neemt, heeft *M. hassiacum* ingedeeld in risicogroep 1. De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC), die pathogeniteit voor de mens in ogenschouw neemt, heeft *M. hassiacum* ingedeeld in BSL-2.²⁶ De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. 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 voorhanden.

M. hassiacum is in 1997 voor het eerst beschreven, en sindsdien zijn slechts een beperkt aantal infecties met *M. hassiacum* in mensen gerapporteerd. In deze sporadische gevallen trad infectie of kolonisatie met de bacterie op in individuen met een onderliggend ziektebeeld en/of na een ingreep (peritoneale dialyse). Tezamen wijzen de publicaties erop dat humane infecties met *M. hassiacum* niet klinisch relevant zijn, en sporadisch en opportunistisch van aard zijn. Er zijn geen aanwijzingen dat de infectie naar andere mensen overgedragen wordt. Ook zijn er in de genomdatabase van *M. hassiacum* geen exotoxinen geannoteerd.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *Mycobacterium hassiacum* (*Mycolicibacterium hassiacum*) een opportunistisch pathogeen is. Zij adviseert daarom *M. hassiacum* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is de COGEM van oordeel dat *M. hassiacum* 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> (bezocht: 23 mei 2018)
2. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). www.bacterio.net/mycobacterium.html (bezocht: 31 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 Groote MA & Huitt G (2006). Infections due to rapidly growing mycobacteria. *Clin. Infect. Dis.* 42: 1756-1763
6. Marsheck 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. Gupta RS *et al.* (2018). Phylogenomics and comparative genomic studies robustly support division of the genus mycobacterium into an emended genus *Mycobacterium* and four novel genera. *Front. Microbiol.* 9: 67
9. 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: 31 mei 2018)
10. WHO (2018). Tuberculosis. Factsheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/ (bezocht: 31 mei 2018)
 11. Stout JE *et al.* (2016). Update on pulmonary disease due to non-tuberculous mycobacteria. *Int. J. Infect. Dis.* 45: 123-134
 12. Lai CC *et al.* (2010). Increasing Incidence of nontuberculous mycobacteria, Taiwan, 2000–2008. *Emerg. Infect. Dis.* 16: 294-296
 13. 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
 14. Tortoli E (2003). Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. *Clin. Microbiol. Rev.* 16: 319-354
 15. Schröder KH *et al.* (1997). *Mycobacterium hassiacum* sp. nov., a new rapidly growing thermophilic mycobacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 86-91
 16. Tortoli E *et al.* (1998). Characterization of an isolate belonging to the newly described species *Mycobacterium hassiacum*. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 30: 193-196
 17. Jiang SH *et al.* (2013). Non-tuberculous mycobacterial PD peritonitis in Australia. *Int. Urol. Nephrol.* 45: 1423-1428
 18. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van *Mycobacterium neoaurum*. COGEM advies CGM/170626-01
 19. Deinhardt-Emmer S *et al.* (2018). First time isolation of *Mycobacterium hassiacum* from a respiratory sample. *Clin. Med. Insights Circ. Respir. Pulm. Med.* 12: 1179548417747529
 20. Ghielmetti G *et al.* (2017). Non-tuberculous Mycobacteria isolated from lymph nodes and faecal samples of healthy slaughtered cattle and the abattoir environment. *Transbound Emerg. Dis.* 65: 711-718
 21. Tiago I *et al.* (2012). Genome sequence of *Mycobacterium hassiacum* DSM 44199, a rare source of heat-stable mycobacterial proteins. *J. Bacteriol.* 194: 7010-7011
 22. COGEM (2017). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties groot aantal bacteriën. COGEM advies CGM/170929-03
 23. COGEM (2018). Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met de bacterie *Mycobacterium thermoresistibile*. COGEM advies CGM/180530-04
 24. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellculturen (DSMZ). *Mycobacterium hassiacum*. https://www.dsmz.de/catalogues/details/culture/DSM-44199.html?tx_dsmzresources_pi5%5BreturnPid%5D=304 (bezocht: 31 mei 2018)
 25. Zwitserse 'Federal Office for the Environment' (FOEN). Classification of Organisms. Part 1: Bacteria. Status January 2013. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezocht: 31 mei 2018)

26. American Type Culture Collection (ATCC). *Mycobacterium hassiacum*. https://www.lgcstandards-atcc.org/Search_Results.aspx?dsNav=Ntk:PrimarySearch%7cmycobacterium+hassiacum%7c3%7c.Ny:True.Ro:0.N:1000552&searchTerms=mycobacterium+hassiacum&redir=1 (bezocht: 31 mei 2018)