

Aan de staatssecretaris van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
De heer drs. P.L.B.A. van Geel
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 15 februari 2007
KENMERK CGM/070215-01
ONDERWERP Advies Uitbreiding Bijlage 1 Regeling GGO

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van een adviesvraag, betreffende het voornemen van uw ministerie om Bijlage 1 van de Regeling GGO te herzien, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

In de Regeling GGO is vastgelegd onder welke omstandigheden met genetisch gemodificeerde organismen gewerkt mag worden. Bijlage 1 van de Regeling GGO bevat een lijst van micro-organismen die als niet pathogeen beschouwd worden. Met deze soorten mag op ML-I niveau gewerkt worden. Deze Bijlage is het laatst herzien in 1998. Bijlage 1 is gebaseerd op de lijst die door het Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie (IMMIP) in Bonn wordt bijgehouden. Er zijn enige inconsistenties tussen de huidige Bijlage 1 en de IMMIP lijst. Sommige micro-organismen staan op de huidige Bijlage, maar worden in de IMMIP lijst als mogelijk pathogeen aangemerkt. Anderen komen niet meer voor op de IMMIP lijst. Bovendien verandert de naamgeving van micro-organismen. De COGEM is om advies gevraagd over de naamgeving en het wel of niet opnemen van een aantal micro-organismen. Betreffende drie soorten, *Streptococcus uberis*, *Streptomyces pyogenes* en *Treponema refringens* is specifiek gevraagd of deze op de vernieuwde Bijlage 1 opgenomen moeten worden. De COGEM is tot de conclusie gekomen, dat de IMMIP lijst een goed startpunt is voor Bijlage 1, maar dat deze niet in zijn geheel kan worden overgenomen. Tevens is de COGEM van mening dat de soorten waarvan de pathogene status niet geheel duidelijk is thans niet opgenomen kunnen worden in de vernieuwde Bijlage 1, omdat een goede onderbouwing ontbreekt. Hetzelfde geldt voor de soorten waarvan de naamgeving onduidelijk is. De COGEM zal zo nodig een onderzoeksproject opstarten om tot goed onderbouwde uitspraken hierover te komen. Met betrekking tot de specifieke vragen adviseert de COGEM *Streptomyces pyogenes* en *Streptococcus uberis* niet op te nemen in de nieuwe Bijlage 1. De COGEM is van mening dat *Treponema refringens* op de vernieuwde Bijlage 1 kan worden gehandhaafd.

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. I. van der Leij

Uitbreiding Bijlage 1 van de Regeling GGO

COGEM advies CGM/070215-01

Micro-organismen worden op basis van hun eigenschappen ingedeeld in pathogeniteitsklassen. Klasse 1 soorten zijn niet pathogeen, in de klassen 2-4 zijn micro-organismen ingedeeld die wel ziekte bij mens, dier of plant veroorzaken. Van deze klassenindeling wordt gebruik gemaakt in de Regeling GGO (1). De Regeling GGO beschrijft op welke onder welke inperkende condities met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) gewerkt mag worden. In deze regeling is een lijst opgenomen van micro-organismen die in principe niet pathogeen zijn voor mens, dier en plant, de zogenaamde Bijlage 1. Deze Bijlage is voor vergunningaanvragers van groot belang omdat met deze micro-organismen onder bepaalde voorwaarden op ML-I inperkingsniveau gewerkt mag worden. Dit is toegestaan indien voor het vervaardigen van de ggo een veilig geachte vector gebruikt wordt en zich in deze vector geen insertie bevindt die een potentieel gevaar voor mens en milieu vormt (1). Voorbeelden van zulke inserties zijn genen die coderen voor toxines, virulentie- of pathogeniteitsfactoren en virale en cellulaire oncogenen. Gastheren die in deze Bijlage 1 vermeld zijn, voldoen aan één van de volgende criteria (1):

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

De oorspronkelijke Bijlage 1 is gebaseerd op een lijst die is samengesteld door de "Berufsgenossenschaft der chemischen Industrie". Deze lijst wordt bijgehouden door een instituut in Bonn, het Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Parasitologie (IMMIP). Dit instituut is in het verleden bezocht door de toenmalige voorzitter en secretaris van de COGEM. Naar aanleiding van dit bezoek is destijds geadviseerd deze lijst als gezaghebbend en maatgevend aan te houden.

De IMMIP lijst wordt voortdurend bijgewerkt en bevat inmiddels ruim 6000 micro-organismen. Sinds 1998 is Bijlage 1 van de Regeling GGO niet meer aangepast. Het

ministerie van VROM wil de Bijlage vernieuwen en heeft de intentie de IMMIP lijst grotendeels over te nemen. Echter, betreffende de pathogeniteit en de naamgeving van een aantal micro-organismen, is er behoefte aan een advies.

Adviesvraag

Naar aanleiding van de herziening van Bijlage 1 van de Regeling GGO heeft Bureau GGO de COGEM een aantal vragen gesteld, welke hier puntsgewijs zijn weergegeven.

1. Kunnen *Streptomyces pyogenes* en *Treponema refringens* worden gehandhaafd op de vernieuwde Bijlage 1?

Streptomyces pyogenes en *Treponema refringens* staan op de huidige Bijlage 1, maar staan niet langer op de huidige IMMIP lijst. De COGEM is om advies gevraagd betreffende de mogelijke pathogeniteit van deze micro-organismen.

2. Kan de COGEM ermee instemmen om *Streptococcus uberis* van Bijlage 1 te verwijderen?

Streptococcus uberis wordt beschouwd als een dierpathogeen en derhalve wordt voorgesteld *S. uberis* van Bijlage 1 te verwijderen, omdat dierpathogenen hierop niet vermeld dienen te staan.

3. Welke benamingen dienen opgenomen te worden in Bijlage 1?

Een derde adviesvraag betreft de naamgeving van een aantal micro-organismen. Het betreft de volgende soorten: *Acinetobacter calcoaceticus*, *Agrobacterium trifolii*, *Anacystis nidulans*, *Bacillus natto*, *Crinalium epipsammum*, *Desulfacinum dehalogenans*, *Desulfitobacterium dehalogenans*, de *Kribbella* soorten, *Streptococcus helveticus*, *Streptomyces lividans*, *Streptomyces natalensis*, *Streptomyces ramocissimus*, *Streptomyces sanguis*, *Streptomyces viridoflavus* en *Treponema phagedenis*. Advies is gevraagd betreffende de wijze waarop deze bacteriën in de vernieuwde Bijlage 1 opgenomen dienen te worden.

4. Zijn de micro-organismen met risicobeoordeling 1(+) mogelijk pathogeen?

Ten slotte zijn een aantal micro-organismen op de IMMIP lijst aangemerkt als 1(+) pathogenen, die op eerdere versies van de IMMIP lijst als klasse 1 waren aangemerkt. De 1(+) classificatie houdt in dat van deze micro-organismen gevallen bekend zijn, waarbij ziekte is opgetreden. Er wordt vanuit gegaan dat het hier zal vaak gaan om bacteriën die opportunistisch pathogeen zijn. Hierdoor zullen ze geen bedreiging vormen voor gezonde, immuun-competente mensen. Deze soorten kunnen dan als apathogeen beschouwd worden. In principe zullen bacteriën in risicoklasse 1(+) niet worden

toegevoegd aan de vernieuwde Bijlage 1, voor deze organismen wordt echter gestreefd naar een casusgewijze evaluatie. Vergunningaanvragers moeten gegevens overleggen om de soort op Bijlage 1 geplaatst te krijgen. Er zijn echter 148 micro-organismen als 1(+) aangemerkt, die op eerdere edities van de IMMIP lijst in pathogeniteitsklasse 1 ingedeeld waren en op de huidige Bijlage 1 vermeld staan. Derhalve is de COGEM is gevraagd een uitspraak te doen over de (a)pathogene status van deze bacteriën voor mens, dier en plant.

5. Kan de COGEM instemmen met de voorgestelde Bijlage 1?

Aan de hand van de meest recente IMMIP lijst is een voorstel van de vernieuwde Bijlage 1 opgesteld. COGEM advies is gevraagd met betrekking tot het mogelijk overnemen van de IMMIP lijst, afgezien van het aantal specifieke vragen, zoals hierboven beschreven.

Overweging en advies

Bijlage 1 van de Regeling GGO is gebaseerd op een lijst die door het IMMIP in Bonn nauwkeurig wordt bijgehouden. De Bijlage zelf is echter sinds 1998 niet meer vernieuwd. De COGEM wordt gevraagd in te stemmen met de voorgestelde uitbreiding van Bijlage 1. Bovendien zijn er naar aanleiding van een eventuele overname van de IMMIP lijst enkele vragen gerezen. De specifieke adviesvragen betreffende de herziening van Bijlage 1 van de Regeling GGO worden puntsgewijs toegelicht en behandeld.

Vraag 1:

De COGEM wordt verzocht te adviseren over de handhaving van *Streptomyces pyogenes* en *Treponema refringens* op de vernieuwde Bijlage 1 en aan te geven tot welke pathogeniteitsklasse deze soorten behoren.

Streptomyces pyogenes

Op de huidige Bijlage 1 staat *Streptomyces pyogenes* vermeld, maar deze wordt niet langer vermeld op de IMMIP lijst. Een zoektocht in de literatuur heeft nauwelijks informatie opgeleverd. In de literatuur wordt sporadisch verwezen naar *S. pyogenes*, maar een degelijke omschrijving van de bacterie is onvindbaar. Daarom heeft de COGEM een externe expert geraadpleegd (3). Volgens deze expert is *S. pyogenes* geen officieel voorkomende naam en zou het mogelijk om een verkeerde verwijzing van *Streptococcus pyogenes* kunnen gaan (3). Hiervan wordt gemeld dat deze onder risicoklasse 2 valt. Deze mogelijke naamsverwarring wordt ondersteund door een omschrijving van *Streptomyces pyogenes*. Deze wordt beschreven als een coccus, terwijl dat niet de gebruikelijke vorm van *Streptomyceae* is. *Streptomyceae* zijn gewoonlijk filamenteus (4).

Conclusie: Op basis van de op dit tijdstip voorhanden gegevens adviseert de COGEM *Streptomyces pyogenes* niet op te nemen op de vernieuwde Bijlage 1.

Treponema refringens

Het genus *Treponema* bevat een aantal soorten, dat verantwoordelijk is voor humane ziekten. Het belangrijkste voorbeeld is *Treponema pallidum*, de veroorzaker van syfilis (5). Het genus *Treponema* behoort door zijn morfogenetische eigenschappen tot de orde van de *Spirochaetales* (5). De beperkt voorhanden zijnde literatuur over *Treponema refringens* geeft aan dat *T. refringens* als niet pathogeen beschouwd wordt (6;7).

Conclusie: De COGEM adviseert *Treponema refringens* te handhaven op de vernieuwde Bijlage 1.

Vraag 2:

In december 2001 is een vergunning aangevraagd die betrekking had op het werken met *Streptococcus uberis*. De aanvrager heeft hierin aan gegeven dat *S. uberis* tot pathogeniteitsklasse 2 behoort. Dit is door VROM overgenomen in de beschikking, waardoor handelingen met *S. uberis* ingeschaald zijn op ML-II inperkingsniveau (8). Het zou een dierpathogeen zijn. De COGEM wordt verzocht in te stemmen met het verwijderen van *S. uberis* van de herziene Bijlage 1.

Streptococcus uberis

Streptococcus uberis behoort tot de familie van de *Streptococcaceae* en het genus *Streptococcus*. Dit genus omvat gram-positieve kokken die normaliter in paren of ketenen groeien (5). *S. uberis* heeft diverse mechanismen ontwikkeld om intracellulair te kunnen overleven en zo het immuunsysteem te kunnen omzeilen (10).

S. uberis infecties kunnen leiden tot de ontwikkeling van zowel acute als chronische mastitis bij runderen (10). Mastitis is voor de melkindustrie economisch gezien één van de belangrijkste ziektes wereldwijd en is verantwoordelijk voor 38% van de productiegelieerde ziektekosten (9). *S. uberis* komt niet alleen veelvuldig voor bij lacterende koeien maar ook op de uiers van koeien die geen melk produceren. Hierdoor ontwikkelen ongeveer 90% van de vaarskalveren mastitis door een *S. uberis* infectie binnen 5 dagen na aanvang van de melkproductie (9). Door deze infectie loopt de kwaliteit van de geproduceerde melk terug (11). Niet alle infecties met *S. uberis* leiden tot klinische symptomen. Er is sprake van een alarmerende toename van intramammaire infecties door *S. uberis* bij de melkveehouderijen (12). Voorzorgsmaatregelen, zoals het regelmatig desinfecteren van de uiers na het melken, bieden geen uitkomst, omdat *S. uberis* deel uitmaakt van het leefmilieu van de koe (10). Mastitis veroorzaakt door *S. uberis* zijn moeilijk te bestrijden, omdat weinig bekend is over de pathogenese van de infectie (13).

Conclusie: In de opinie van de COGEM is *S. uberis* een dierpathogeen en moet daarom niet in de vernieuwde Bijlage 1 worden opgenomen.

Vraag 3:

Een aantal soorten dat eerder op Bijlage 1 vermeld stond worden niet langer meer vermeld op de IMMIP lijst of heeft een andere naam gekregen. Advies is gevraagd over de wijze waarop deze bacteriën in de Bijlage opgenomen dienen te worden.

Deze vraag heeft betrekking op een groep bacteriën waarvan meerdere namen bekend zijn of die in deze vorm niet voorkomen op de IMMIP lijst. Het betreft hier *Acinetobacter calcoaceticus*, *Agrobacterium trifolii*, *Anacystis nidulans*, *Bacillus natto*, *Desulfacinum dehalogenans*, *Desulfitobacterium dehalogenans*, *Kribbella*, *Streptococcus helveticus*, *Streptomyces lividans*, *Streptomyces natalensis*, *Streptomyces ramocissimus*, *Streptomyces sanguis*, *Streptomyces viridoflavus* en *Treponema phagedenis*. Voorgesteld is om alle gehanteerde namen in de herziene Bijlage 1 op te nemen. De naamgeving van bacteriën verandert regelmatig en aanvragers zouden mogelijk bepaalde soorten niet terug kunnen vinden. Uitzonderingen hierop zijn de soortnamen *Agrobacterium trifolii* en *Desulfacinum dehalogenans*, die van de lijst verwijderd zouden moeten worden.

De COGEM wijst erop dat deze benamingen in de huidige Bijlage 1 opgenomen zijn, waardoor ze mogelijk in de praktijk al gebruikt worden.

De COGEM is van mening dat nader onderzoek naar de genoemde soorten noodzakelijk is, om vast te stellen of de verschillende namen daadwerkelijk in alle gevallen op het zelfde organisme slaan. Pas na opheldering in deze kan de COGEM een advies geven over de wijze van naamgeving.

Vraag 4:

Op de laatste versie van de IMMIP lijst zijn 148 bacteriesoorten in risicogroep 1(+) ingedeeld, die op eerdere versies in pathogeniteitsklasse 1 waren ingedeeld en op de huidige Bijlage 1 staan. Dit zijn mogelijk opportunistische pathogenen of pathogenen voor mens, dier of plant. Deze soorten zouden gehandhaafd moeten blijven op Bijlage 1, tenzij er gegronde redenen zijn, deze niet langer op te nemen.

De COGEM is van mening dat het wel of niet opportunistisch pathogeen zijn van een bacterie niet eenvoudig vast te stellen is. Bovendien zijn er nauwelijks of verwarrende gegevens beschikbaar over de 148 1(+) pathogenen waarover advies gevraagd wordt en zijn er ook hier twijfels over de taxonomische correcte naamgeving. Het bepalen van de mogelijke pathogeniteit van 148 soorten vergt naar de mening van de COGEM uitvoerig onderzoek welke niet binnen de gestelde adviestermin door de COGEM afgerond kan worden. Derhalve zijn de experts van de COGEM van mening dat een gefundeerde uitspraak op dit moment niet gedaan kan worden.

Vraag 5:

De IMMIP lijst is een uitstekend uitgangspunt voor Bijlage 1 en de COGEM spreekt haar grote waardering uit over de volledigheid van de IMMIP lijst. Echter de COGEM wijst erop dat er tevens discrepanties zijn aangetroffen tussen de huidige IMMIP lijst, vorige edities hiervan en andere lijsten, die verklaring behoeven. De COGEM is daarom van mening dat een uitvoerig literatuur onderzoek gedaan moet worden en overleg, met de onderzoekers die de IMMIP lijst bijhouden, gepleegd dient te worden. De COGEM zal deze materie ter hand nemen en hiervoor mogelijkwjs een onderzoeksproject opstarten. De Nederlandse Vereniging voor Microbiologie is op dit moment bezig met een herziening van het boekje “Veilig werken met micro-organismen”. Hierin wordt ook een lijst opgenomen van micro-organismen en hun pathogeniteitsklasse. Het streven is om te komen tot uniforme lijsten. Dit is van groot belang voor het werkveld om verwarring en onduidelijkheden te voorkomen.

Het overnemen van de gehele IMMIP lijst is nu prematuur, gezien de gerezen twijfel over de juistheid hiervan. Zou de lijst nu wel worden overgenomen, dan ligt het in de lijn der verwachting dat binnen een afzienbare termijn grote aanpassingen doorgevoerd moeten worden. Hierdoor zou de consistentie bij de vergunningafgifte in het geding komen. Concluderend is de COGEM van mening dat de IMMIP lijst niet in zijn geheel kan worden overgenomen. Eerst dienen goed onderbouwde uitspraken te zijn gedaan met betrekking tot de inconsistenties en taxonomische onvolkomenheden die hierin voorkomen.

Referenties

1. Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen 2004
2. <http://www.dsmz.de/microorganisms/html/strains/strain.dsm002073.html>
3. Prof. dr. Paul de Vos. Taxonoom verbonden aan de universiteit van Gent
4. Jonsbu E., McIntyre M., Nielsen J. (2002) The influence of carbon sources and morphology on nystatin production by *Streptomyces noursei*. J Biotechnol. 95:133-144
5. Murray P.R., Rosenthal K.S., Kobayashi G.S., Pfaller M.A. (2002) Medical Microbiology
6. Baughn R.E., Adams C.B., Musher D.M. (1983) Circulating immune complexes in experimental syphilis: identification of treponemal antigens and specific antibodies to treponemal antigens in isolated complexes. Infect Immun. 42: 585-593
7. Becker P.S., Akins D.R., Radolf J.D., Norgards M.V. (1994) Similarity between the 38-Kilodalton Lipoprotein of *Treponema pallidum* and the glucose/galactose-binding (MglB) protein of *Escherichia Coli*. Infect Immun. 62: 1381-1391

8. GGO/01-193 (2001) Ontwikkeling van effectieve vaccins tegen *Streptococcus uberis* mastitis m.b.v. genomica.
9. Tamilselvam B., Almeida R.A., Dunlap J.R., Oliver S.P. (2006) *Streptococcus uberis* internalizes and persists in bovine mammary epithelial cells. *Microb Pathog.* 40: 279-285
10. Denis M., Parlane N.A., Lacy-Hulbert S.J., Summers E.L., Buddle B.M., Wedlock D.N. (2006) Bactericidal activity of macrophages against *Streptococcus uberis* is different in mammary gland secretions of lactating and drying off cows. *Vet Immunol Immunopathol.* 114: 111-120
11. Leigh J.A. (1999) *Streptococcus uberis*: a permanent barrier to the control of bovine mastitis? *Vet J.* 157: 225-238
12. Jayaro B.M., Gillespie B.E., Lewis M.J., Dowlen H.H., Oliver S.P. (1999) Epidemiology of *Streptococcus uberis* intramammary infections in a dairy herd. *J Vet Med B.* 46: 433-442
13. Mathews K.R., Almeida R.A., Oliver S.P. (1994) Bovine mammary epithelial cell invasion by *Streptococcus uberis*. *Infect Immun.* 62: 5641-5646