

Advies betreffende: **Virulentie factoren van Mycobacterium Marinum**

Kennisgever: **Vereniging voor Christelijk Wetenschappelijk Onderwijs, Vrije Universiteit**

COGEM kenmerk  
**CGM/011220-01**

BGGO nummer  
**GGO 01-170**

Datum advies  
**20 december 2001**

## **Inleiding**

*Mycobacterium marinum* is een klasse 2 organisme die veelvuldig voorkomt in het milieu. *M. marinum* wordt aangetroffen in oppervlakte water maar ook in aquaria. *M. marinum* kan alleen repliceren bij temperaturen lager dan 35°C.

Het organisme kan een tuberculoseachtige ziekte veroorzaken bij koudbloedige dieren, zoals vissen en amfibieën. Na infectie van koudbloedige dieren kan *M. marinum* een langdurige ziekte veroorzaken welke voor sommige soorten zelfs lethaal kan zijn. Gezonde mensen kunnen eveneens door *M. marinum* geïnfecteerd worden, maar in deze gevallen kunnen hierdoor alleen huidinfecties veroorzaakt worden. Deze huidinfecties zijn niet pijnlijk en kunnen goed worden behandeld met tegen mycobacteriën gerichte antibiotica.

*M. fortuitum* is een snel groeiende mycobacterium soort die in staat is om vissen te infecteren. Ook bij mensen kan *M. fortuitum* infecties veroorzaken. In tegenstelling tot *M. marinum* is dit alleen mogelijk in situaties waarbij sprake is van een (tijdelijk) defect in het immuunsysteem, vaak ten gevolge van een operatieve ingreep.

Zowel *M. marinum* als *M. fortuitum* kunnen zich niet verspreiden via de lucht of via menselijk contact. Tot nu toe bij geen enkele mycobacterium soort de productie van toxines gemeld wel zijn factoren bekend die een necrotische werking hebben of apoptose induceren. Aanvullend kan aangegeven worden dat in de genomsequenties van *M. tuberculosis*, *M. bovis* en *M. leprae* geen genen zijn gevonden waarvan verwacht wordt dat deze coderen voor een toxine. Om deze reden wordt verondersteld dat het zeer onwaarschijnlijk is dat *M. marinum* als *M. fortuitum* toxines produceren.

Het kennisgegeven onderzoek heeft als doel de pathogenese van *M. marinum* en *M. fortuitum* nader te bestuderen. Zowel virulentie factoren van de bacterie als aspecten van de gastheer worden nader onderzocht. Gedurende het onderzoek worden genetisch gemodificeerde *M. marinum* en *M. fortuitum* toegepast om zebravissen te infecteren. De genetische modificatie van *M. marinum* en *M. fortuitum* omvat de introductie van markergenen, resistentiegenen en gemodificeerde virulentie genen.

## **Overwegingen en advies**

Onderdeel 1 Klonering in *Escherichia coli*:

Dit onderdeel betreft de klonering van diverse donorsequenties in E.coli. De aanvrager beschrijft de klonering van:

- virulentie genen (PE en PPE),
- genen betrokken bij de biosynthese van mycolzuren en lipobinomannanen,
- genen coderend voor gesecreteerde eiwitten van M. marinum,
- markergenen (hygromycine, kanamycine, GFP, lux, phoA, lacZ, blaM).

Voor de klonering van sequenties coderend voor gesecreteerde eiwitten merkt de COGEM op dat het niet uitgesloten kan worden dat dergelijke sequenties coderen voor eiwitten met een schadelijke werking. Olsen et al [1] beschrijft dat door mycobacteriën gesecreteerde eiwitten mogelijk een immunologische rol kunnen spelen. Hierbij kan niet uitgesloten worden dat deze eiwitten ook toxische effecten kunnen hebben. Dobos et al [2] beschrijft dat een gesecreteerd eiwit van bepaalde mycobacteriën apoptose en necrose kunnen induceren. De COGEM adviseert de betreffende werkzaamheden in te schalen op VMT niveau (artikel 5.2.i) [3] .

#### Onderdelen 2, 3 en 4:

Aangaande de betreffende onderdelen ziet de COGEM geen aanleiding om in haar advies af te wijken van de door het Bureau GGO opgestelde inschaling.

Onderdeel 5 Handelingen met proefdieren in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen (M. marinum en M. fortuitum):

De aanvraag betreft handelingen met de genetisch gemodificeerde mycobacteria in associatie met de zebravissen. Dergelijke experimenten kunnen principieel niet in een D-I ruimte plaatsvinden. D-I levert onvoldoende inperking voor de genetisch gemodificeerde micro-organismen die zich in het milieu kunnen verspreiden. De COGEM adviseert derhalve de aangevraagde experimenten in uit te voeren in een D-II laboratorium. Hierbij adviseert de COGEM de onderstaande aanvullende voorschriften op te volgen:

- Tijdens de werkzaamheden worden beschermende handschoenen gedragen,
- Tijdens de werkzaamheden wordt werkkleding gedragen die na gebruik in het verblijf achterblijft, deze kleding wordt ontsmet alvorens ze gewassen wordt,
- Tijdens de werkzaamheden dragen de werknemers waterdicht schoeisel,
- Tijdens de werkzaamheden dragen de werknemers een waterdicht schort,
- Bij morsen dient direct ontsmet te worden,
- De proefdieren worden gehouden in een aquarium dat voorzien is van een afsluitbaar deksel om verspreiding van aërosolen te voorkomen,
- Elk aquarium wordt voorzien van een label, waarop de in het aquarium aanwezige proefdieren en micro-organismen worden gespecificeerd,
- De aquaria worden niet aangesloten op een doorstroomsysteem,
- Onder de aquaria bevinden zich lekbakken welke de gehele inhoud van de aquaria kunnen opvangen,
- Afvalwater en ander biologisch afval, zoals bijvoorbeeld geïnfecteerde proefdieren, worden ontsmet met een gevalideerde methode alvorens het materiaal wordt afgevoerd,

· De genetisch gemodificeerde micro-organismen worden van de C-I ruimte naar het D-II verblijf vervoerd in gesloten, breukvaste en lekdichte houders die voor het vervoer uitwendig worden ontsmet.

[1] Olsen et al, (1991), Scan. J. Immunol. Vol. 54, pag. 306

[2] Dobos et al, (2001), Infect. Immunol. Vol 69, pag. 7128

[3] Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (juni 1998)