

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 22 augustus 2019
KENMERK CGM/190822-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Aeromonas piscicola*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Aeromonas piscicola' (IG 19-198_2.13-000), ingediend door de Universiteit Leiden, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Aeromonas piscicola*. Bacteriën binnen het genus *Aeromonas* worden veelal aangetroffen in aquatische milieus, bodems en in voedsel. *A. piscicola* is voornamelijk aangetroffen in zieke vissen, onder andere in goudvissen met bloedvergiftiging.

A. piscicola bezit verschillende virulentiefactoren, maar het is nog niet bekend hoe deze virulentiefactoren bijdragen aan infectie en ziekte.

Op basis van de beschikbare literatuur concludeert de COGEM dat *A. piscicola* geassocieerd is met ziekte in vissen. Vanwege de verwantschap aan *A. hydrophila* (ook wat betreft virulentie-eigenschappen), kan niet geheel uitgesloten worden dat *A. piscicola* ook pathogeen voor mensen zou kunnen zijn. De COGEM adviseert de bacteriesoort *A. piscicola* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en op te nemen in bijlage 4, lijst 4.2 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. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Aeromonas piscicola*

COGEM advies CGM/190822-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag getiteld 'Aeromonas piscicola' (IG 19-198), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Aeromonas piscicola*, en over plaatsing van deze bacterie op Bijlage 4 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Bijlage 4 van de Regeling ggo betreft de indeling in klassen van pathogene micro-organismen.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (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. *Aeromonas piscicola*

Aeromonas piscicola is een facultatieve anaerobe Gram-negatieve staafvormige bacterie. De bacteriën zijn 1,5-2 µm lang en 0,6-1 µm breed en hebben een zweepstaart (flagellum). *A. piscicola* kan groeien bij temperaturen tussen de 4 en 37 °C, met een groei optimum bij 25-30 °C.² De typestam, *A. piscicola* stam S1.2 is 2005 geïsoleerd uit zieke wilde zalm (*Salmo salar*) in Spanje (Carballedo, Galicia).^{2,3} Andere *A. piscicola* isolaten zijn geïsoleerd uit zieke vissen: forel (*Oncorhynchus mykiss*),² goudvis (*Carassius auratus*)⁴ en bokvis (*Boops boops*),⁵ en ook is *A. piscicola* geïsoleerd uit gepasteuriseerde melk,⁶ en sushi.⁷

De bacteriën binnen het genus *Aeromonas* worden aangetroffen in aquatische milieus, bodems en in voedsel. Veel soorten zijn pathogenen van zoogdieren (waaronder mensen), vissen, ongewervelde dieren of insecten. De bacterie *A. hydrophila* is geassocieerd met gastro-enteritis, wondaandoeningen, brandwondeninfecties en sepsis bij mensen, vogels, vissen, reptielen en amfibieën.^{8,9,10} Het isolaat *A. piscicola* AH-3, geïsoleerd uit gekweekte goudvissen waarbij bloedvergiftiging vastgesteld is, werd voorheen *A. hydrophila* AH-3 genoemd, maar is in 2009 geïsoleerd als *A. piscicola*.^{2,10,11}

A. salmonicida, *A. bestiarum* en *A. popoffii* zijn genetisch het nauwst verwant aan *A. piscicola*. De eerste twee bacteriën zijn vispathogenen die economisch belangrijke ziekten veroorzaken onder respectievelijk zalmachtigen en karpers, terwijl *A. popoffii* geïsoleerd is uit drinkwaterreservoirs en drinkwaterbedrijven.^{12,13,14} Ook is *A. popoffii* geïsoleerd uit de urine van een patiënt met een urineweginfectie na katheterisatie vanwege een neurogene blaas.¹⁵

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *A. piscicola*. Wel heeft de COGEM een groot aantal ander *Aeromonas*soorten geïsoleerd.¹⁶ *Aeromonas enteropelogenes* is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1. *A. allosaccharophila*, *A. caviae*, *A. dhakensis*, *A. enteropelogenes*, *A. hydrophila* subsp. *anaerogenes*, *A. hydrophila* subsp. *hydrophila*, *A. jandaei*, *A. schubertii*, *A. sobria* en *A. veronii*^a zijn alle ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. *A. salmonicida* subsp. *masoucida*, *A. salmonicida* subsp. *salmonicida*, *A. salmonicida* subsp. *smithia* zijn als strikt dierpathogeen ingedeeld in klasse 2.

^a *A. veronii* staat in de COGEM classificatielijst abusievelijk genoemd op zowel de lijst met pathogene soorten als de lijst met apathogene soorten. Dit is ontstaan omdat een apathogene bacterie (*Aeromonas culicicola*) een taxonomische wijziging heeft ondergaan en tegenwoordig bekend staat als *A. veronii*. *A. veronii* behoort echter in pathogeniteitsklasse 2 en zal daarom in een volgende actualisatie van de classificatielijsten verwijderd worden uit de lijst met apathogene bacteriën.

5. Classificaties door andere beoordelende instanties

A. piscicola is door het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) ingedeeld als dierpathogeen behorende tot risicogroep 1, met de vermelding dat het hier gaat om een pathogeen van gewervelde dieren en dat vanwege andere regelgeving bij werkzaamheden inperkende maatregelen vergelijkbaar met niveau 2 moeten worden genomen.¹⁷ De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en advies

De taxonomie binnen het genus *Aeromonas* is complex en aan verandering onderhevig. Hierdoor, en wegens problemen met identificatie, is in de literatuur onduidelijkheid of zelfs conflicterende informatie ontstaan over virulentie en pathogeniteit van verschillende *Aeromonas*soorten.^{10,18}

A. piscicola is voornamelijk geïsoleerd uit zieke vissen. Studies hebben aangetoond dat *A. piscicola* verschillende virulentiefactoren bevat.^{7,18} Aangetoond is dat een *A. piscicola* stam geïsoleerd uit sushi de enterotoxine genen *act*, *alt*, en *ast* bevat, en genen die coderen voor de hemolytische en porievormende toxines hemolysine en aerolysine.⁷ *In vitro* studies hebben aangetoond dat collagenase geproduceerd door *A. piscicola* een cytotoxisch effect had op Vero cellen (nierepitheelcellen afkomstig van een Groene meerkat).⁹ *A. piscicola* produceert ook een extracellulair lipase. Hoewel lipases bij sommige pathogenen gerelateerd zijn aan virulentie, is de relatie tussen dit lipase en virulentie in deze soort speculatief.¹⁰ Ook is *A. piscicola* β -hemolytisch op schapen- en koeienbloed agar.^{2,5} Het is echter nog niet bekend hoe de verschillende virulentiefactoren van *A. piscicola* kunnen bijdragen aan infectie en ziekte.

Op basis van de beschikbare literatuur concludeert de COGEM dat *A. piscicola* geassocieerd is met ziekte in vissen. Vanwege de verwantschap aan *A. hydrophila* (ook wat betreft virulentie-eigenschappen), kan niet geheel uitgesloten worden dat *A. piscicola* ook pathogeen voor mensen zou kunnen zijn. De COGEM adviseert de bacteriesoort *A. piscicola* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en op te nemen in bijlage 4, lijst 4.2 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen (GGO) milieubeheer (2013)
<https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2019-07-01> (bezocht: 8 augustus 2019)
2. Beaz-Hidalgo R *et al.* (2009). *Aeromonas piscicola* sp. nov., isolated from diseased fish. Syst. Appl. Microbiol. 32: 471–479
3. BacDive. <https://bacdive.dsmz.de/strain/282> (bezocht: 9 augustus 2019)
4. Merino S & Tomás JM (1988). Characterization of an *Aeromonas hydrophila* strain isolated on a septicemic out-break in a fish-farm of Spain. Microbiologia 4: 181-184
5. Beaz-Hidalgo R *et al.* (2010). Comparison of phenotypical and genetic identification of *Aeromonas* strains isolated from diseased fish. Syst. Appl. Microbiol. 33: 149-153

6. BacDive. <https://bacdive.dsmz.de/strain/23546> (bezocht: 12 augustus 2019)
7. Hoel S *et al.* (2017). Species distribution and prevalence of putative virulence factors in mesophilic *Aeromonas* spp. isolated from fresh retail sushi. *Front. Microbiol.* 8: 931
8. Janda JM & Abbott SL (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin. Microbiol. Rev.* 23: 35-73
9. Duarte AS *et al.* (2015). *Aeromonas piscicola* AH-3 expresses an extracellular collagenase with cytotoxic properties. *Lett. Appl. Microbiol.* 60: 288–297.
10. Rasmussen-Ivey CR *et al.* (2016). Virulence factors of *Aeromonas hydrophila*: In the wake of reclassification. *Front. Microbiol.* 7, 1337. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01337>
11. Forn-Cuní G *et al.* (2016). Genome Sequence of *Aeromonas hydrophila* Strain AH-3 (Serotype O34). *Announc* 4(5):e00919-16. doi:10.1128/genomeA.00919-16.
12. Ringø E *et al.* (2004). Damaging effect of the fish pathogen *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida* on intestinal enterocytes of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) *Cell Tissue Res.* 318: 305–311
13. Kozinska A *et al.* (2002). Phenotypic characteristics and pathogenicity of *Aeromonas* genomospecies isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Appl. Microbiol.* 93: 1034-1041
14. Huys G *et al.* (1997). *Aeromonas popoffii* sp. nov., a mesophilic bacterium isolated from drinking water production plants and reservoirs. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 47: 1165-1171
15. Hua HT *et al.* (2004). *Aeromonas popoffii* urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.* 42: 5427–5428
16. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/181112-03
17. Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe. (2015). 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?__blob=publicationFile&v=4 (bezocht: 9 augustus 2019)
18. Králová S *et al.* (2016). Classification of *Aeromonas* spp. isolated from water and clinical sources and distribution of virulence genes. *Folia Microbiol.* 61: 513–521