

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

**DATUM** 18 januari 2021  
**KENMERK** CGM/210118-02  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie bacteriesoorten *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld '*Humicola insolens*, *Ideonella sakaiensis*, *Lachancea thermotolerans*, *Kluyveromyces lactis* / *Kluyveromyces thermotolerans*, *Streptomyces muensis*' (IG 20-275\_2.13-000), ingediend door de Vrije Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoorten *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis*.

*Ideonella sakaiensis* is een aerobe Gram-negatieve bacteriesoort. *I. sakaiensis* bacteriën zijn staafvormig en hebben een flagellum waarmee ze zich voortbewegen. In 2016 werd *I. sakaiensis* tezamen met andere microben geïsoleerd uit plastic bevattende slib- en bodemmonsters, welke verzameld waren nabij een plasticrecyclingfaciliteit in Sakai, Japan. *I. sakaiensis* is in staat PET af te breken met behulp van enzymen en als energiebron te gebruiken. *I. sakaiensis* groeit bij een pH van 5,5 tot 9, met een optimum bij pH 7-7,5, en bij een temperatuur van 15 tot 42° C, met een optimum bij 30-37 ° C.

*Streptomyces muensis* is een Gram-positieve en spoorvormende bacteriesoort. *S. muensis* vormt vertakkende hyfen en luchthyfen die zich ontwikkelen tot spiraalvormige sporenketens. *S. muensis* is in 2014 geïsoleerd uit een grondmonster afkomstig uit een kalksteengroeve. *S. muensis* groeit bij temperaturen van 25 tot 37° C en een pH tussen de 6 en 10.

Er zijn geen publicaties bekend die *I. sakaiensis* of *S. muensis* in verband brengen met pathogeniteit voor plant, mens of dier.

Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM om *I. sakaiensis* en *S. muensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in bijlage 2 lijst A1 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  
                  - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's, DG  
                  Milieu en Internationaal

# Pathogeniteitsclassificatie van *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis*

## COGEM advies CGM/210118-02

### 1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Vrije Universiteit, is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoorten *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis* (IG 20-275) en de plaatsing van deze bacteriesoorten op Bijlage 2, Lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup>

Tevens is de GOCEM naar aanleiding van het verzoek gevraagd te adviseren over de gistsoort *Lachancea thermotolerans* (IG 20-275) en diens plaatsing op Bijlage 2, Lijst A1 van de Regeling ggo. Gezien het hier verschillende organismen betreft, heeft de COGEM uit praktische overwegingen aparte adviezen opgesteld voor de gistsoort (CGM/20210118-01) en de bacteriesoorten. Het onderhavige advies betreft enkel de bacteriesoorten *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis*.

### 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.

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 micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voorhanden.

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.

Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem of een onderliggend ziektebeeld, 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.

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. Beschrijving organismen

#### *Ideonella sakaiensis*

*Ideonella sakaiensis* is een aerobe Gram-negatieve bacteriesoort, behorend tot de familie *Camomonadaceae* en de order Burkholderiales.<sup>2,3</sup> *I. sakaiensis* bacteriën zijn staafvormig en hebben een flagellum waarmee ze zich voortbewegen. *I. sakaiensis* groeit bij een pH van 5,5 tot 9, met een optimum van 7-7,5. De bacterie groeit bij temperaturen tussen de 15 tot 42° C, met een optimale groeitemperatuur tussen de 30-37° C.<sup>3</sup>

In 2016 werd *I. sakaiensis* stam 201-F6<sup>T</sup> tezamen met andere microben geïsoleerd uit plastic bevattende slib- en bodemonsters, welke verzameld waren nabij een plasticrecyclingfaciliteit in Sakai, Japan.<sup>4</sup> Met behulp van 16S rRNA sequenties is aangetoond dat *I. sakaiensis* stam 201-F6<sup>T</sup> behoort tot het genus *Ideonella*, en nauw verwant is aan twee andere soorten: *Ideonella dechloratans*, een chloraat-afbrekende bacterie, en *Ideonella azotifigens*, een stikstof-bindende bacterie.<sup>3</sup> *I. sakaiensis* is in staat om polyethyleentereftalaat (PET) af te breken en als energiebron te gebruiken.<sup>4</sup> Hierdoor kunnen de bacteriën bijvoorbeeld PET flessen gedeeltelijk, afhankelijk van de amorfe of gekristalliseerde staat van het PET, afbreken.<sup>5</sup> De PETase enzymen van *I. sakaiensis* die dit bewerkstelligen worden onderzocht en geoptimaliseerd voor industriële doeleinden zoals plasticrecycling.<sup>6,7,8</sup>

#### *Streptomyces muensis*

*Streptomyces muensis* is een Gram-positieve en spoorvormende bacteriesoort. Soorten uit het genus *Streptomyces* staan bekend om het produceren van secundaire metabolieten, waaronder een groot aantal antibiotica.<sup>9,10</sup> Daarnaast hebben *Streptomyces* bacteriën een draadvormige of filamenteuze morfologie en een complexe levenscyclus, waarbij substraatmycelium en luchtmycelium gevormd worden die zich kunnen ontwikkelen tot sporenketens.<sup>11,12</sup> *S. muensis* vormt zo ook vertakkende

hyfen en luchthyfen die zich ontwikkelen tot spiraalvormige sporenketens. *S. muensis* groeit bij temperaturen van 25 tot 37° Celsius en een pH tussen de 6 en 10.<sup>13,14</sup>

*S. muensis* is in 2014 geïsoleerd uit een grondmonster afkomstig uit een kalksteengroeve.<sup>13</sup> De soort *Streptomyces canchipurensis* was eveneens afkomstig uit een kalksteengroeve en is later hernoemd tot *S. muensis*.<sup>14,15</sup>

#### 4. Eerder COGEM advies en internationale classificaties

In het COGEM advies ‘Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën’ (CGM/181112-03) zijn *Streptomyces* bacteriesoorten ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1 met als uitzonderingen *Streptomyces somaliensis* en plantpathogene *Streptomyces* soorten, welke in pathogeniteitsklasse 2 staan ingedeeld. De COGEM heeft niet eerder over *Ideonella* bacteriesoorten geadviseerd.

*I. sakaiensis* en *S. muensis* zijn opgenomen in de LPSN (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature) als risicogroep 1 organismen.<sup>16</sup> Beiden soorten zijn ook ingedeeld in risicogroep 1 door de Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) die pathogeniteit voor de mens beoordeelt.<sup>17</sup> Deze inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

#### 5. Overweging

De soorten *I. sakaiensis* en *S. muensis* zijn beiden in het afgelopen decennium geïsoleerd en geïdentificeerd. Er zijn geen publicaties bekend die *I. sakaiensis* of *S. muensis* in verband brengen met pathogeniteit voor plant, mens of dier.

Het *Ideonella* genus bevat 5 soorten, geen van deze soorten is gerapporteerd als pathogeen.<sup>16</sup>

Het *Streptomyces* genus bestaat uit meer dan 650 soorten volgens het LPSN.<sup>16</sup> Twee *Streptomyces* soorten, *S. somaliensis* en *S. sudanensis*, staan beschreven als pathogeen voor de mens.<sup>18,19</sup> Deze soorten zijn geïsoleerd uit een patiënt in Somalië en uit een patiënt uit Sudan. Tevens staan enkele *Streptomyces* soorten beschreven als plantpathogeen.<sup>20,21</sup> De best bestudeerde plantpathogene *Streptomyces* zijn *Streptomyces scabiei* (syn. *S. scabies*), *S. acidiscabies* en *S. turgidiscabies*, welke schurft in aardappelplanten veroorzaken.<sup>22</sup>

In de wetenschappelijke literatuur is, zover bij de COGEM bekend, niet gerapporteerd dat *S. muensis* een plantpathogene soort zou zijn. De soorten waaraan *S. muensis* het meest verwant is (*S. coeruleofuscus*, *S. nogalater*, *S. coerulescens* en *S. spinoverrucosus*) staan tevens niet beschreven als plantpathogene soorten.<sup>13,14,15</sup> Daarnaast is het vanwege de oorspronkelijke herkomst van *S. muensis* (een kalksteengroeve) niet waarschijnlijk dat de soort pathogeen is voor plant, mens of dier.

#### 6. Advies

Samengevat adviseert de COGEM om *I. sakaiensis* evenals *S. muensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in Bijlage 2, Lijst A1, van de Regeling ggo.

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2019-07-01> (bezocht op 08-01-2021)
2. NCBI Taxonomy. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (bezocht op 13-01-2021)
3. Tanasupawat S *et al.* (2016). *Ideonella sakaiensis* sp. nov., isolated from a microbial consortium that degrades poly (ethylene terephthalate). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 2813-2818.
4. Yoshida S *et al.* (2016). A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science* 351: 1196-1199.
5. Wallace NE *et al.* (2020). The highly crystalline PET found in plastic water bottles does not support the growth of the PETase-producing bacterium *Ideonella sakaiensis*. *Environ. Microbiol. Rep.* 12: 578-582.
6. Liu C *et al.* (2019). Structural and functional characterization of polyethylene terephthalate hydrolase from *Ideonella sakaiensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 508: 289-294.
7. Moog D *et al.* (2019). Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation. *Microb. Cell Fact.* 18: 171.
8. Seo H *et al.* (2019). Production of extracellular PETase from *Ideonella sakaiensis* using sec-dependent signal peptides in *E. coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 508: 250-255.
9. Chater KF (2006). *Streptomyces* inside-out: a new perspective on the bacteria that provide us with antibiotics. *Philos. Trans. R. Soc.* 361: 761-768.
10. Barka EA *et al.* (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 80: 1-43.
11. Flårdh K & Buttner MJ (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nat. Rev. Microbiol.* 7: 36-49.
12. McCormick JR & Flårdh K (2012). Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. *FEMS Microbiol. Rev.* 36: 206-231.
13. Ningthoujam D *et al.* (2013). *Streptomyces muensis* sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek* 104: 1135-1141.
14. Wink J *et al.* (2017). ‘*Streptomyces caelicus*’, an antibiotic-producing species of the genus *Streptomyces*, and *Streptomyces canchipurensis* Li *et al.* 2015 are later heterotypic synonyms of *Streptomyces muensis* Ningthoujam *et al.* 2014. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67: 548-556.
15. Li WJ *et al.* (2014). *Streptomyces canchipurensis* sp. nov., isolated from a limestone habitat. *Antonie van Leeuwenhoek* 106: 1119-1126.
16. LSPN - List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. <https://lpsn.dsmz.de/> (bezocht op 08-01-2021)
17. Technical Rule for Biological Agents (TRABA) opgesteld door de ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA); <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html> (bezocht op 08-01-2021).
18. DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, *Streptomyces somaliensis* DSM40738. <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/details/culture/DSM-40738> (bezocht op 08-01-2021)
19. Quintana ET *et al.* (2008). *Streptomyces sudanensis* sp. nov., a new pathogen isolated from patients with actinomycetoma. *Antonie Van Leeuwenhoek* 93: 305-313.
20. Bignell DR *et al.* (2010). What does it take to be a plant pathogen: genomic insights from *Streptomyces* species. *Antonie Van Leeuwenhoek* 98: 179-194.

21. Li Y *et al.* (2019). Virulence mechanisms of plant-pathogenic *Streptomyces* species: an updated review. *Microbiology*, 165: 1025-1040.
22. Loria R *et al.* (2008). Thaxtomin biosynthesis: the path to plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 94: 3-10.