

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 14 maart 2017
KENMERK CGM/170314-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsklasse van de bacterie *Methylobacterium mesophilicum*

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een verzoek van Stichting Wageningen Research om de bacterie *Methylobacterium mesophilicum* op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene organismen) te plaatsen (IG 16-393_2.8-000) deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Methylobacterium mesophilicum* en de plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Methylobacterium mesophilicum is een gram-negatieve bacterie die strikt aeroob en facultatief methylootroof is. *M. mesophilicum* is geïsoleerd van bladoppervlakten, uit bodem en riool- en drinkwater. De bacterie komt voor als endofyt in sinaasappelbomen. *M. mesophilicum* heeft de mogelijkheid om biofilms te vormen en is dan erg resistent tegen uitdroging, hoge temperaturen, en behandeling met chemische of antibacteriële middelen. *M. mesophilicum* wordt met regelmaat aangetroffen in (drink)water of preservatievloeistoffen in ziekenhuizen, waarbij ook medische hulpmiddelen zoals endoscopen en katheters gecontamineerd kunnen zijn met deze bacterie.

Van *M. mesophilicum* is bekend dat infectie kan optreden in patiënten die immuun-gecompromitteerd zijn of een onderliggende ziekte hebben. De COGEM heeft echter geen aanwijzingen dat *M. mesophilicum* een ziekte in gezonde mensen, dieren of planten kan veroorzaken en is daarom van mening dat *M. mesophilicum* een opportunistisch pathogeen is. Zij adviseert daarom *M. mesophilicum* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van mening dat *M. mesophilicum* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2 op lijst A1 (apathogene organismen) 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. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Met het oog op eventuele belangenverstremeling is het COGEM lid dr. W.J. de Kogel niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Methylobacterium mesophilicum*

COGEM advies CGM/170314-01

1. Inleiding

De COGEM is naar aanleiding van een verzoek van Stichting Wageningen Research (IG 16-393) gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Methylobacterium mesophilicum* en over de plaatsing van deze soort op Bijlage 2, lijst A1.

Bijlage 2, lijst A1 maakt deel uit van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo)¹ en bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratorium restricties met het betreffende micro-organisme ggo's vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (lijst A2 veilige vectoren en lijst A3 inserties).

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling ggo

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de 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. *Methylobacterium mesophilicum*

Methylobacterium mesophilicum is een gram-negatieve bacterie die tot de familie van de *Methylobacteriaceae* (klasse: *Alphaproteobacteria*) behoort. Soorten van het genus *Methylobacterium* zijn strikt aerob. Deze bacteriën zijn facultatief methyloroof en kunnen dan met name moleculen met enkelvoudige koolstofverbindingen gebruiken voor groei, zoals methanol of methaan.

M. mesophilicum is geïsoleerd van bladoppervlakten, uit bodem en riool- en drinkwater.^{2,3} De bacterie komt voor als endofyt in sinaasappelbomen en staat in de belangstelling omdat het als 'biocontrol agent' gebruikt kan worden, doordat het de populatie van de bacterie *Xyllela fastidiosa* kan onderdrukken die 'citrus variegated chlorosis' veroorzaakt.⁴

M. mesophilicum heeft de mogelijkheid om te groeien in biofilms, waarbij de bacteriën zich via een extracellulaire matrix bestaande uit componenten die ze zelf produceren, hechten aan oppervlakten. Hierdoor is *M. mesophilicum* erg resistent tegen uitdroging, hoge temperaturen en chemische of antibacteriële middelen.^{5,6,7} Contaminatie met *M. mesophilicum* van (drink)water of preservatievloeistoffen in ziekenhuizen is aangetroffen. Hierdoor kunnen bijvoorbeeld medische hulpmiddelen zoals endoscopen en katheters gecontamineerd zijn met *M. mesophilicum*.^{6,7} Er zijn verscheidene publicaties verschenen waarbij contaminatie van deze hulpmiddelen met *M. mesophilicum* geresulteerd heeft in infectie van behandelde patiënten.^{2,3} In andere gevallen was de bron van infectie bij patiënten niet te herleiden, maar dit kan te wijten zijn aan de lage sensitiviteit van microbiologische screeningsmethoden om *M. mesophilicum* aan te tonen.^{2,7} Daarnaast zijn er gevallen beschreven waarin patiënten gekoloniseerd waren met *M. mesophilicum* als gevolg van gecontamineerde bronchoscopen. Deze patiënten vertoonden echter geen tekenen van ziekte.^{8,9}

4. Eerder COGEM advies en classificaties andere beoordelende instanties

De COGEM heeft eerder geadviseerd over (handelingen met) bacteriën binnen het genus *Methylobacterium* en deze geïnclassificeerd als apathogene micro-organismen (pathogeniteitsklasse 1).¹⁰

De 'American Type Culture Collection' (ATCC) heeft werkzaamheden met *M. mesophilicum* ingeschaald op het laagste veiligheidsniveau BSL1.¹¹ Deze classificatie van de ATCC is gebaseerd op pathogeniteit voor de mens. Zowel de Duitse risicobeoordelingsinstantie BAuA als de Zwitserse risicobeoordelingsinstantie van de FOEN classificeren *M. mesophilicum* als een apathogeen (klasse 1) micro-organisme voor mens, dier en plant, met de opmerking dat de bacterie infectie kan veroorzaken in immuun-gecompromitteerde individuen.^{12,13}

5. 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 micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voorhanden.

Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *M. mesophilicum* pathogeen is voor gezonde mensen, dieren of planten. Wel zijn er verschillende publicaties verschenen waarbij kolonisatie en infectie optrad van *M. mesophilicum* bij patiënten die immuun-gecompromiteerd waren als gevolg van anti-kankerchemotherapie of na beenmergtransplantatie.^{2,14,15,16} De infectie bij deze patiënten was over het algemeen goed te relateren aan de bron van *M. mesophilicum*, zoals gecontamineerde katheters of preservatievloeistof. Daarnaast zijn er gevallen beschreven waarin *M. mesophilicum* bacteriëmie veroorzaakte in niet-gezonde individuen, zoals in patiënten met een lymfoom, lymfadenitis of met een oogkastrauma, of als gevolg van alcoholisme.^{2,17,18,19} Er zijn geen publicaties waarin beschreven wordt dat *M. mesophilicum* gezonde mensen of dieren infecteert. Daarnaast zijn er studies beschreven waarin *M. mesophilicum* wel patiënten kon koloniseren die endoscopie ondergingen met een gecontamineerde bronchoscoop, maar dit leidde niet tot ziekte in deze patiënten.^{8,9}

Onder laboratoriumcondities is gevonden dat *M. mesophilicum* komkommer, paprika en tomaat kan infecteren in extreem droge en zoutrijke condities, maar er zijn geen aanwijzingen dat dit leidt tot ziekte.²⁰ Aanwezigheid van *M. mesophilicum* als endofyt in sinaasappelbomen zou kunnen leiden tot antagonisme van de schadelijke bacterie *Xyllela fastidiosa*.

Het voorgaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *M. mesophilicum* niet pathogeen is voor mens, dier en plant en daarmee voldoet aan bovengenoemd criterium 'a' voor plaatsing op de lijst apathogene bacteriën. Zij adviseert daarom deze bacteriesoort in pathogeniteitsklasse 1 in te delen en op te nemen in 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> (bezoekt: 8 maart 2017)
2. Sanders JW *et al.* (2000). *Methylobacterium mesophilicum* infection: case report and literature review of an unusual opportunistic pathogen. *Clin. Infect. Dis.* 30: 936-938
3. Kovaleva J *et al.* (2014). *Methylobacterium* and its role in health care-associated infection. *J. Clin. Microbiol.* 52(5): 1317-1321
4. Azevedo *et al.* (2016). The diversity of citrus endophytic bacteria and their interactions with *Xyllela fastidiosa* and host plants. *Genet. Mol. Biol.* 39: 476-491

5. Furuhashi K *et al.* (2006). Isolation and identification of *Methylobacterium* species from the tap water in hospitals in Japan and their antibiotic susceptibility. *Microbiol. Immunol.* 50: 11-17
6. Kovaleva J *et al.* (2013). Transmission of infection by flexible gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. *Clin. Microb. Rev.* 26: 231-254
7. Rice EW *et al.* (2000). Monitoring for methylobacteria in water systems. *J. Clin. Microbiol.* 38: 4296-4297
8. Flournoy DJ *et al.* (1992). A pseudo-outbreak of *Methylobacterium mesophilica* isolated from patients undergoing bronchoscopy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 11: 240-243
9. Kressel AB *et al.* (2001). A pseudo-outbreak of *Mycobacterium chelonae* and *Methylobacterium mesophilicum* caused by contamination of an automated endoscopy washer. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 22: 414-418.
10. COGEM (2011). Classificatie van apathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-02
11. American Type Culture Collection. *Methylobacterium mesophilicum*. www.lgcstandards-atcc.org/products/all/29983.aspx?geo_country=nl (bezocht: 8 maart 2017)
12. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). *Methylobacterium mesophilicum*. TRBA 466 "Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen" (25.06.2016). www.baua.de/nr_15226/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf (bezocht: 8 maart 2017)
13. Federal Office for the Environment (FOEN). *Methylobacterium mesophilicum*. www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html (bezocht: 8 maart 2017)
14. Kaye KM *et al.* (1992). Catheter infection caused by *Methylobacterium* in immunocompromised hosts: report of three cases and review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 14: 1010-1014
15. Brown MA *et al.* (1996). *Methylobacterium* bacteremia after infusion of contaminated autologous bone marrow. *Clin. Infect. Dis.* 23: 1191-1192
16. Fernandez M *et al.* (1997). *Methylobacterium mesophilica* as a cause of persistent bacteremia in a child with lymphoma. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 16: 1007-1008
17. Simon A *et al.* (2007). Protracted cervical lymphadenitis with *Mycobacterium avium* and *Methylobacterium mesophilicum*. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 26: 971
18. Barriere P *et al.* (2008). Postoperative intraorbital haematoma with septicemia due to *Methylobacterium mesophilicum*: a rare cause. *Case report. Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.* 109: 323-325
19. Liu JW *et al.* (1997). *Methylobacterium mesophilicum* synovitis in an alcoholic. *Clin. Infect. Dis.* 24: 1008-1009
20. Egamberdieva D *et al.* (2015). Salt tolerant *Methylobacterium mesophilicum* showed viable colonization abilities in the plant rhizosphere. *Saudi J. Biol. Sci.* 22: 585-590