

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 22 november 2018
KENMERK CGM/181122-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Pseudomonas stutzeri*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,


Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier 'Pseudomonas stutzeri' (IG 18-144_2.13-000) van de Stichting Katholieke Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Pseudomonas stutzeri* en de plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'. De COGEM heeft deze bacterie eerder ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De aanvrager heeft een verzoek ingediend om *P. stutzeri* in te delen in pathogeniteitsklasse 1.

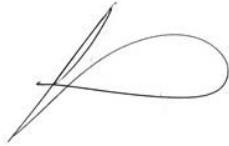
P. stutzeri is een Gram-negatieve, staafvormige en denitrificerende bacterie die wereldwijd voorkomt in bodem en water. De optimale groeitemperatuur van *P. stutzeri* ligt rond de 35°C. Er zijn zeldzame gevallen van *P. stutzeri* infecties beschreven bij patiënten met een onderliggend ziektebeeld, een doorbroken lichaamsbarrière (bijvoorbeeld door een operatie, of opgelopen trauma), of met een verzwakt immuunsysteem.

Op basis van de thans beschikbare informatie komt de COGEM tot oordeel dat *P. stutzeri* een opportunistisch pathogeen is, en adviseert zij *P. stutzeri* omlaag te schalen naar pathogeniteitsklasse 1.



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 IenW

Heroverweging pathogeniteitsclassificatie *Pseudomonas stutzeri*

COGEM advies CGM/181122-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Stichting Katholieke Universiteit (IG 18-144) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van de bacteriesoort *Pseudomonas stutzeri* en plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende organisme genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die níet, op de A-lijsten staan (respectievelijk 'lijst A2 veilige vectoren' en 'lijst A3 inserties'). Activiteiten met deze ggo's kunnen direct na kennisgeving gestart worden. De COGEM heeft *P. stutzeri* eerder ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De aanvrager heeft een verzoek ingediend om deze bacterie in te delen in pathogeniteitsklasse 1.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling 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.

Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem, 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 ggo geplaatst worden.

3. *Pseudomonas stutzeri*

3.1 Beschrijving van het organisme

P. stutzeri is een aerobe, Gram-negatieve, staafvormige en denitrificerende bacterie die voor het eerst is beschreven in 1895. De bacterie behoort tot het genus *Pseudomonas*. *P. stutzeri* komt wijdverspreid voor in het milieu en is geïsoleerd uit bodem en water, maar ook uit mensen.² De optimale groeitemperatuur van *P. stutzeri* ligt rond de 35°C, maar voor individuele *P. stutzeri* stammen zijn groeitemperaturen vastgesteld die uiteenlopen tussen de 4°C en 45°C. Onder zure condities (pH 4,5 of lager) is de groei van de bacterie belemmerd.² De tpeestam van *P. stutzeri* (CGMCC 1.1803 = ATCC 17588) is in 2011 volledig gesequenced. Het genoom bestaat uit een circulair chromosoom van 4,5 Mbp.³ Ook zijn er verschillende andere stammen gesequenced.

P. stutzeri produceert geen pyocyanine of pyoverdine, twee virulentiefactoren die door sommige *Pseudomonas* soorten geproduceerd worden (voornamelijk door *Pseudomonas aeruginosa*). Tevens vertoont de bacterie geen hemolytische activiteit en is de soort *in vitro* minder cytotoxisch dan *P. aeruginosa*.⁴ *P. stutzeri* is gevoelig voor verschillende antibiotica.^{2,4}

3.2 Ziektegevallen en pathogeniteit

P. stutzeri wordt af en toe geïsoleerd uit klinisch of pathologisch materiaal. Sinds 1973 zijn er in de wetenschappelijke literatuur een aantal casussen gerapporteerd waarbij *P. stutzeri* geassocieerd was met verschillende ziektebeelden (onder andere bacteriëmie, infectie van botten/gewrichten, meningitis, pneumonie, endocarditis en ooginfecties). In alle gevallen was er sprake van een onderliggend ziektebeeld, een eerdere operatie, lichamelijke letsel, of een verzwakt immuunsysteem.²

Enkele recente casussen waarbij *P. stutzeri* is geïdentificeerd bij ziekte, betreffen gevallen waarbij na een hartoperatie of na het plaatsen van een hartklepprothese endocarditis (ontsteking van de binnenbekleding van het hart en de hartkleppen) opgetreden is. In één casus is *P. stutzeri* geïsoleerd uit een mitralisklepprothese van een 22-jarige patiënt met Marfan syndroom.⁵ Na behandeling met antibiotica is de patiënt weer hersteld. In dit artikel worden tevens gepubliceerde casussen genoemd tussen 1995 en 2017 waarbij *P. stutzeri* bij verschillende infecties is geïsoleerd. Eén publicatie maakt melding van

bacteriële meningitis bij een 73-jarige man, waarbij volgens de auteurs geen sprake was van een onderliggende aandoening of verzwakt immuunsysteem. In eerste instantie werden geen bacteriën geïdentificeerd uit het hersenvocht, maar bij later onderzoek is *P. stutzeri* gedetecteerd. Deze patiënt is 16 uur na hospitalisatie overleden aan hart- en longfalen.⁶ Omdat het artikel in het Turks is gepubliceerd, zijn de onderliggende gegevens niet inzichtelijk en is niet duidelijk of *P. stutzeri* een rol heeft gespeeld bij het overlijden van de patiënt.

In 2018 is een casus beschreven van een 72-jarige man die een maand na een hartoperatie en aortaklepprothese endocarditis ontwikkelde en is overleden.⁷ Op de klepprothese werd bacteriële groei gedetecteerd en hieruit is *P. stutzeri* geïsoleerd. In het artikel wordt vermeld dat *P. stutzeri* ook meerdere keren geïsoleerd is van medische apparatuur en ventilatoren in het medische centrum. Mogelijk heeft contaminatie van apparatuur een rol gespeeld bij de infectie en is er sprake geweest van een nosocomiale infectie (ziekenhuisinfectie). In dit 'case report' wordt tevens een kort overzicht gegeven van gerapporteerde *P. stutzeri* infecties bij endocarditis na hartoperaties tussen 1962 en 2017. Met uitzondering van deze casus zijn de vier patiënten uit andere casussen volledig genezen van de endocarditis na toediening van antibiotica.⁷

In een andere casus uit 2018 is *P. stutzeri* geïsoleerd uit een 91-jarige vrouw met endocarditis aan de aortaklep waaraan geen operatie is voorafgegaan.⁸ Volgens de auteurs had de patiënt geen actieve onderliggende ziekte op het moment van de diagnose. Wel heeft de patiënt in het verleden verschillende medische ingrepen en ziekten meegemaakt (waaronder borstkanker en een heupimplantaat) en speelde ondervoeding mogelijk een rol bij de ontwikkeling van de ziekte.⁸

Naast hartklepprothesen zijn er ook enkele gevallen gerapporteerd van infectie met *P. stutzeri* waarbij andere lichaamsvreemde materialen zijn aangebracht. Zo is de bacterie geïsoleerd uit bloed van een 73-jarige vrouw met een geschiedenis van acute myeloïde leukemie, cholecystectomie en een totale knie vervanging,⁹ en is *P. stutzeri* geïsoleerd uit peritoneale vloeistof van een 82-jarige vrouw die een jaar lang Continue Ambulante Peritoneale Dialyse (CAPD) onderging vanwege een nierziekte.¹⁰ Na behandeling met antibiotica zijn beide patiënten hersteld en was geen noodzaak om de katheter/prothese te verwijderen.

Ook is infectie met *P. stutzeri* gerapporteerd in patiënten met een verzwakt immuunsysteem. Een 19-jarige vrouw met de ziekte van Crohn heeft na toediening van immunosuppressieve medicatie meningitis ontwikkeld, waarbij *P. stutzeri* geïdentificeerd is.¹¹ Na behandeling met antibiotica is de patiënte hersteld. Ook is *P. stutzeri* een enkele keer aangetoond in het bloed van patiënten die hematopoëtische stamceltransplantaties ondergingen.¹²

In een surveillance van ziekenhuisinfecties op de intensive care van verschillende Nederlandse ziekenhuizen is *P. stutzeri* tussen 1997 en 2000 slechts bij uitzondering geïdentificeerd. De bacterie is in 0,1% van de gevallen geïsoleerd uit patiënten met een mogelijke pneumonie, en in 2% van de gevallen geïsoleerd uit patiënten met sepsis secundair aan een respiratoire infectie.¹³

4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft *P. stutzeri* sinds 2011 opgenomen in haar lijsten met pathogeniteitsclassificaties als soort uit pathogeniteitsklasse 2.¹⁴ Deze classificatie was gebaseerd op een onderzoeksproject dat in opdracht van de COGEM is uitgevoerd. Voor dit project zijn de risicogroepindelingen van een groot aantal bacteriën van verschillende internationale beoordelende instanties naast elkaar gelegd.¹⁵ Met betrekking tot *P. stutzeri* was de indeling niet eenduidig, omdat de bacterie zowel in risicogroep 1 als 2 was ingedeeld.^{15,16} Na aanvullend literatuuronderzoek en raadpleging van externe experts is de bacterie op basis van consensus in klasse 2 ingedeeld.¹⁵

In 2018 heeft de COGEM de lijsten met pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal bacteriën geactualiseerd, en hierin zijn enkele *Pseudomonas* soorten (i.e., *Pseudomonas fluorescens* en stammen DC454 en MB101, *Pseudomonas jessenii* en stammen RU47 en UW4, en *Pseudomonas putida*) geclassificeerd als apathogene bacteriën. Daarnaast zijn meerdere *Pseudomonas* soorten, waaronder *Pseudomonas aeruginosa*, geclassificeerd in pathogeniteitsklasse 2.¹⁷

5. Classificaties door andere beoordelende instanties

De Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAuA) die pathogeniteit voor de mens beoordeelt, heeft *P. stutzeri* ingedeeld in risicogroep 1, met de aanvullende opmerking dat de bacterie meestal in mensen met een verzwakte weerstand is gedetecteerd, en dat de identificatie van de soort vaak niet betrouwbaar is.¹⁸ De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC), die eveneens pathogeniteit voor de mens beoordeelt, heeft meerdere *P. stutzeri* stammen in haar collectie, welke allemaal ingedeeld zijn in BSL1.¹⁹ De Duitse ‘Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit’ (ZKBS) en de ‘Sammlung von Mikroorganismen und Zellculturen’ (DSMZ), die beide pathogeniteit voor mens, dier en plant in ogenschouw nemen, hebben *P. stutzeri* ook in risicogroep 1 ingedeeld.^{20,21} Het Zwitserse ‘Federal Office for the Environment’ (FOEN), die ook de pathogeniteit voor mens, dier en plant in ogenschouw neemt, heeft *P. stutzeri* in risicogroep 1 ingedeeld, met de aanvullende opmerking dat de bacterie bewezen of vermoedelijk pathogeen is in individuele gevallen, voornamelijk bij patiënten met een substantiële immuundeficiëntie. Ook hier wordt vermeld dat de identificatie van de soort vaak onbetrouwbaar is.²²

De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overwegingen en advies

P. stutzeri is een veelvoorkomende omgevingsbacterie. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *P. stutzeri* pathogeen is voor gezonde mensen, dieren of planten. *P. stutzeri* wordt geassocieerd met kolonisatie of infectie in patiënten met een onderliggend ziektebeeld, een doorbroken lichaamsbarrière (bijvoorbeeld door een operatie, of opgelopen trauma), of met een verzwakt immuunsysteem. Mogelijk wordt het opportunistische karakter van de bacterie bepaald door het vermogen om snel te groeien onder nutritioneel gunstige omstandigheden en onder verschillende temperaturen, zoals in het menselijk lichaam. Zo is bij experimentele toediening van *P. stutzeri* in de trachea van muizen gebleken dat *P. stutzeri* in vergelijking met andere *Pseudomonas* soorten en stammen in eerste instantie een snelle groei kent, maar die ook snel weer afneemt.⁴ Ook zijn er in de

genoomdatabase van *P. stutzeri* geen exotoxinen geannoteerd. De COGEM is van oordeel dat *P. stutzeri* een opportunistische pathogeen is.

Het voorgaande in overweging nemende adviseert de COGEM *Pseudomonas stutzeri* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *P. stutzeri* in aanmerking komt voor plaatsing op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2018-10-01> (bezocht: 15 november 2018)
2. Lalucat J *et al.* (2006). Biology of *Pseudomonas stutzeri*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 70: 510-547
3. Chen M *et al.* (2011). Complete genome sequence of the type strain *Pseudomonas stutzeri* CGMCC 1.1803. J. Bacteriol. 193: 6095
4. Tayabali AF *et al.* (2015). Virulence attributes and host response assays for determining pathogenic potential of *Pseudomonas* strains used in biotechnology. PLoS ONE 10: e0143604
5. Shalabi A *et al.* (2018). Infective endocarditis caused by *Pseudomonas stutzeri* in a patient with Marfan syndrome: Case report and brief literature review. IDCases 10: 22–25
6. Sunbul M *et al.* (2009). Community-acquired *Pseudomonas stutzeri* meningitis in an immunocompetent patient. Mikrobiyol. Bul. 43: 159-162 [Turks]
7. Halabi Z *et al.* (2018). *Pseudomonas stutzeri* prosthetic valve endocarditis: A case report and review of the literature.
8. Héquette-Ruz R *et al.* (2018). Native aortic valve endocarditis due to *Pseudomonas stutzeri* in a 91-year-old woman. Med. Mal. Infect. 48: 492-494
9. Bishara J *et al.* (2000). Prosthetic knee septic arthritis due to *Pseudomonas stutzeri*. Can. J. Infect. Dis. 11: 329-332
10. Park SW *et al.* (2013). Successful antibiotic treatment of *Pseudomonas stutzeri*-induced peritonitis without peritoneal dialysis catheter removal in continuous ambulatory peritoneal dialysis. Kidney Res. Clin. Pract. 32: 81–83
11. Boland BS *et al.* (2015). *Pseudomonas* meningitis during vedolizumab therapy for Chron's disease. Am. J. Gastroenterol. 110: 1631-1632
12. Wang L *et al.* (2010). Prevalence of resistant Gram-negative bacilli in bloodstream infection in febrile neutropenia patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation: a single center retrospective cohort study. Medicine (Baltimore), 94: e1931
13. RIVM rapport 210601003. PREZIES: PREventie van ZIEkenhuisinfecties door Surveillance, Component infecties op de Intensive Care, 1997-2000
14. COGEM (2011). Classificatie pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/111220-03
15. Van Belkum (2011). Classification of bacterial pathogens. COGEM onderzoeksrapport CGM 2011-07
16. COGEM (2011). Aanbieding onderzoeksrapport 'Classification of bacterial pathogens'. COGEM aanbiedingsbrief CGM/111220-01

17. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/181112-03
18. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). Mycobacterium smegmatis. TRBA 466 'Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen'. www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html (bezocht: 13 november 2018)
19. American Type Culture Collection (ATCC). *Pseudomonas stutzeri*. <http://www.lgcstandards-atcc.org/search#q=pseudomonas%20stutzeri&sort=relevancy> (bezocht: 13 november 2018)
20. Zentralen Kommission für die Biologische Sicherheit (2013). Bekanntmachung der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten. www.zkbs-online.de/ZKBS/SharedDocs/Downloads/Organismenliste.html (bezocht: 13 november 2018)
21. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellculturen (DSMZ). *Pseudomonas stutzeri*. [https://www.dsmz.de/index.php?id=304&tx_dsmzresources_pi3\[filter_a\]=0&tx_dsmzresources_pi3\[filter_b\]=0&tx_dsmzresources_pi3\[filter_c\]=0&tx_dsmzresources_pi3\[dsmzno\]=&tx_dsmzresources_pi3\[sterm\]=Pseudomonas+stutzeri](https://www.dsmz.de/index.php?id=304&tx_dsmzresources_pi3[filter_a]=0&tx_dsmzresources_pi3[filter_b]=0&tx_dsmzresources_pi3[filter_c]=0&tx_dsmzresources_pi3[dsmzno]=&tx_dsmzresources_pi3[sterm]=Pseudomonas+stutzeri) (bezocht: 13 november 2018)
22. Federal Office for the Environment (FOEN). Classification of organisms. Part 1: Bacteria. Status January 2013. www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html (bezocht: 13 november 2018)