

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

DATUM 16 juli 2019

KENMERK CGM/190716-01

ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Prevotella amnii*, *Prevotella copri*, *Prevotella timonensis* en *Lactobacillus iners*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van twee adviesvragen betreffende de dossiers '*Prevotella spp*' (IG 19-158_2.13-000) en '*Lactobacillus iners*' (IG 19-159_2.13-000) ingediend door de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht, deelt de COGEM u het volgende mee.

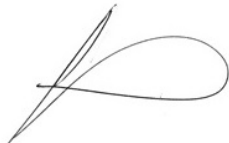
Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van de vier bacteriesoorten *Prevotella amnii*, *Prevotella copri*, *Prevotella timonensis* en *Lactobacillus iners*. Deze bacteriën komen bij de mens als commensaal in de darmen of in de vaginale flora voor.

Er zijn bij de COGEM geen publicaties bekend waarin de vier bacteriesoorten worden aangemerkt als ziekteverwekkend voor mens, dier of plant. Zij is daarom van oordeel dat *P. amnii*, *P. copri*, *P. timonensis* en *L. iners* niet pathogeen zijn, en adviseert deze bacteriën in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is de COGEM van oordeel dat *P. amnii*, *P. copri*, *P. timonensis* en *L. iners* in aanmerking komen voor plaatsing op 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
Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn de COGEM leden prof. dr. J. van Putten en dr. J.J.P.A de Cock niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van de bacteriesoorten *Prevotella amnii*, *Prevotella copri*, *Prevotella timonensis* en *Lactobacillus iners*

COGEM advies CGM/190716-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een tweetal verzoeken van de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht, is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoorten *Prevotella amnii*, *Prevotella copri*, *Prevotella timonensis* (IG 19-158) en *Lactobacillus iners* (IG 19-159), en de plaatsing van deze bacteriën op Bijlage 2 lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Bijlage 2, lijst A1 bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier en plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-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, zonder dat een aanvrager daar een milieuroisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie de risico's voor mens en milieu in oenschouw 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

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 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 ggo geplaatst worden.

3. *Lactobacillus iners*

L. iners behoort tot de familie van de *Lactobacillaceae*.² Het is een Gram-positieve, facultatief anaerobe, staafvormige bacterie, die voor het eerst in 1999 is beschreven.³ *L. iners* komt voor in de vaginale commensale flora van vrouwen.^{4,5,6} Bij een verschuiving in de samenstelling van deze flora (vaginale dysbiose), kan *L. iners* uitgroeien.⁷ Er zijn aanwijzingen dat de bacterie betrokken is bij het in stand houden van bacteriële vaginose (het aanwezig zijn van abnormale flora, al dan niet met ziektesymptomen).⁸ De aanwezigheid van *L. iners* zou - naast andere risicofactoren - geassocieerd zijn met het optreden van vroeggeboorte, maar een direct oorzakelijk verband is niet aangetoond.^{4,9,10} *L. iners* kan het porievormende cytotoxine inerolysine produceren.⁷

4. *Prevotella spp.*

P. amnii, *P. copri* en *P. timonensis* behoren tot de familie van de *Prevotellaceae*.¹¹ *Prevotella spp.* zijn Gram-negatieve, strikt anaerobe, staafvormige bacteriën die als commensaal bij de mens onder meer in de darmen voorkomen.^{6,12}

4.1 *Prevotella amnii*

P. amnii is voor het eerst beschreven in 2008.¹³ De bacterie werd geïsoleerd uit vruchtwater. Aanwezigheid van *P. amnii* in de vaginale flora lijkt gecorreleerd te zijn met het optreden van bacteriële vaginose en vroeggeboorte, maar een direct oorzakelijk verband is niet aangetoond.^{8,10,14,15} De bacterie is één keer (samen met *Gardnerella vaginalis*) uit een spinaal epiduraal abces geïsoleerd.¹⁶

4.2 *Prevotella copri*

P. copri is voor het eerst beschreven in 2007.¹⁷ De bacterie werd geïsoleerd uit humane feces. De aanwezigheid van *Prevotella* soorten bij intestinale dysbiose zou mogelijk wijzen op een correlatie met het ontwikkelen van reumatoïde artritis.¹⁸ Of specifiek *P. copri* daarbij een rol speelt, is onbekend.¹⁸ Perinataal met HIV geïnfecteerde kinderen laten een toename zien van kolonisatie met *P. copri* in het maagdarmkanaal.¹⁹

4.3 *Prevotella timonensis*

P. timonensis is voor het eerst beschreven in 2007.²⁰ De bacterie werd, samen met *Prevotella disiens*, geïsoleerd uit een abces in de borst van een 40-jarige vrouw. Een studie uit 2018 beschrijft dat *P. timonensis* uit een breed spectrum aan klinische monsters is geïsoleerd.²¹ Het betrof vooral wonden en monsters afgenomen van de genitaliën. De bacterie werd altijd in combinatie met andere bacteriesoorten aangetroffen.

5. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft 6 *Lactobacillus* soorten in een pathogeniteitsklasse ingedeeld. *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum* en *L. rhamnosus* heeft zij ingedeeld in klasse 1. *L. psittaci* heeft zij ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.^{22,23,24,25} Daarnaast heeft zij 18 *Prevotella* soorten geïsoleerd, en allen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.²⁵

6. Classificaties door andere beoordelende instanties

De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC), die pathogeniteit voor de mens beoordeelt, heeft één *L. iners* stam beoordeeld en het uitvoeren van handelingen met deze stam ingedeeld op veiligheidsniveau BSL2.²⁶ De stam was geïsoleerd bij een patiënt met bacteriële vaginose. De ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA), die pathogeniteit voor de mens beoordeelt, heeft *L. iners*, *P. amni*, *P. copri* en *P. timonensis* als apathogeen ingedeeld in de laagste risicogroep (groep 1).²⁷ Het Zwitserse ‘Federal Office for the Environment’ (FOEN) die pathogeniteit voor mens, dier en plant beoordeelt, heeft *L. iners* ook ingedeeld in risicogroep 1.²⁸

De inschalingen door deze instanties worden als referentie en achtergrondinformatie gebruikt bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. Overwegingen

L. iners, *P. amnii*, *P. copri* en *P. timonensis* maken deel uit van de normale bacteriële flora van de mens. Daarbij worden *L. iners*, *P. amnii*, en *P. timonensis* bij specifieke ontstekingsprocessen gevonden, onder meer van de vrouwelijke genitaliën, en altijd in combinatie met andere species. De COGEM merkt op dat de bacteriën weliswaar met de ontstekingsprocessen zijn geassocieerd, maar dat nooit is aangetoond dat ze daadwerkelijk een ontsteking hebben veroorzaakt.

P. amnii en *P. timonensis* zijn geïsoleerd uit abscessen, maar niet als reïncultuur. Daarnaast is *P. timonensis* uit verschillende andere klinische materialen geïsoleerd, maar eveneens altijd samen met een andere bacteriesoort. De patiënt, bij wie *P. amnii* samen met *G. vaginalis* in een spinaal epiduraal abces werd aangetroffen, leed aan diabetes en was kort daarvoor behandeld met het immuun-

suppressivum prednison. Naar het oordeel van de COGEM duidt dit op een opportunistische menginfectie.

Het bovenstaande in overweging nemende, concludeert de COGEM dat *L. iners*, *P. amnii*, *P. copri* en *P. timonensis* betrokken zijn bij opportunistische kolonisatie van de mens, zonder dat daarbij sprake is van invasiviteit. Zij is daarom van oordeel dat de bacteriën niet ziekteverwekkend zijn. Er zijn bij de COGEM geen publicaties bekend waarin de vier bacteriesoorten worden aangemerkt als ziekteverwekkend voor dier of plant.

8. Advies

Samengevat adviseert de COGEM *L. iners*, *P. amnii*, *P. copri* en *P. timonensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *L. iners*, *P. amnii*, *P. copri* en *P. timonensis* in aanmerking komen voor plaatsing op Bijlage 2 lijst A1 van Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2019-04-01> (bezoekt: 9 juli 2019)
2. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. www.bacterio.net/lactobacillaceae.html (bezoekt: 8 juli 2019)
3. Falsen E *et al.* (1999). Phenotypic and phylogenetic characterization of a novel *Lactobacillus* species from human sources: description of *Lactobacillus iners* sp. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49: 217-221
4. Vaneechoutte M (2017). *Lactobacillus iners*, the unusual suspect. *Res. Microbiol.* 168: 826-836
5. Vásquez A *et al.* (2002). Vaginal lactobacillus flora of healthy Swedish women. *J. Clin. Microbiol.* 40: 2746-2749
6. Onderdonk AB *et al.* (2016). The human microbiome during bacterial vaginosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 29: 223-238
7. Petrova MI *et al.* (2017). *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? *Trends Microbiol.* 25: 183-191
8. Gottschick C *et al.* (2017). Treatment of biofilms in bacterial vaginosis by an amphoteric tenside pessary-clinical study and microbiota analysis. *Microbiome* 5: 119-134
9. Kindinger LM *et al.* (2017). The interaction between vaginal microbiota, cervical length, and vaginal progesterone treatment for preterm birth risk. *Microbiome* 5: 6-20
10. Fettweis JM *et al.* (2019). The vaginal microbiome and preterm birth. *Nat. Med.* 25: 1012-1021
11. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. www.bacterio.net/prevotellaceae.html (bezoekt: 9 juli 2019)
12. Precub G & Vodnar D-C (2019). Gut *Prevotella* as a possible biomarker of diet and its eubiotic versus dysbiotic roles: a comprehensive literature review. *Br J. Nutr.* <https://doi.org/10.1017/S0007114519000680>
13. Lawson PA *et al.* (2008). *Prevotella amnii* sp. nov., isolated from human amniotic fluid. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 89-92
14. Twin J *et al.* (2013). The potential of metatranscriptomics for identifying screening targets for bacterial vaginosis. *PloS One* 8: e76892

15. Lennard K *et al.* (2018). Microbial composition predicts genital tract inflammation and persistent bacterial vaginosis in South African adolescent females. *Inf Imm.* 86: e00410-17
16. Stewart L *et al.* (2018). Spinal epidural abscess caused by *Gardnerella vaginalis* and *Prevotella amnii*. *Infect. Dis. Clin. Pract.* 26: 237-239
17. Hayashi H *et al.* (2007). *Prevotella copri* sp. nov. and *Prevotella stercorea* sp. nov., isolated from human faeces. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 941-946
18. Alpizar-Rodriguez D *et al.* (2019). *Prevotella copri* in individuals at risk for rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 78: 590-593
19. Kaur US *et al.* (2018). High abundance of genus *Prevotella* in the gut of perinatally HIV-infected children is associated with IP-10 levels despite therapy. *Nature* 8: 17679-17695
20. Glazunova OO *et al.* (2007). *Prevotella timonensis* sp. nov., isolated from a human breast abscess. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 883-886
21. Aberkane S *et al.* (2018). Clinical sources and antimicrobial susceptibility of *Prevotella timonensis* at the university hospital of Montpellier, France. *Anaerobe* 50: 19-21
22. COGEM (2007). Classificatie van enkele micro-organismen van bijlage 1 van de Regeling ggo COGEM advies CGM/070917-02
23. COGEM (2008). Bijlage 1 van de regeling ggo: Classificatie van 14 bacteriën. COGEM advies CGM-080602-03
24. COGEM (2008). Classificatie van *Lactobacillus rhamnosus*. COGEM advies CGM/080806-01
25. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/181112-03
26. American Type Culture Collection (ATCC). www.lgcstandards-atcc.org/products/all/55195.aspx (bezoekt: 9 juli 2019)
27. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA; 2015). TRBA 466 'Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen'. www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf?__blob=publicationFile&v=4 (bezoekt: 9 juli 2019)
28. Federal Office for the Environment (FOEN; 2013). Classification of organisms. Part 1: Bacteria. www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publicationsstudies/publications/classification-of-organisms.html (bezoekt: 9 juli 2019)