

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

DATUM 22 december 2017
KENMERK CGM/171222-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van 3 anaerobe thermofiele bacteriën

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van Syngip B.V. om de bacteriën *Thermosinus carboxydivorans*, *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila* op Bijlage 2, lijst A1 te plaatsen (IG 17-243_2.13-000, IG 17-245_2.13-000 en IG 17-247_2.13-000) deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

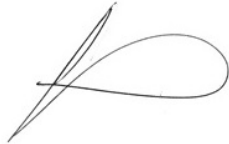
De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriën *Thermosinus carboxydivorans*, *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila* en de plaatsing van deze bacteriën op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'.

De betreffende bacteriesoorten groeien goed bij hoge temperaturen bij de afwezigheid van zuurstof. *T. carboxydivorans* is geïsoleerd uit een warmwaterbron in het Yellowstone park in de Verenigde Staten. De *Thermincola* soorten zijn beide geïsoleerd uit warmwaterbronnen in Rusland.

De hoge optimale groeitemperaturen van deze bacteriën maken het zeer onwaarschijnlijk dat zij pathogeen zijn voor mens of dier. Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat *T. carboxydivorans*, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Zij adviseert daarom *T. carboxydivorans*, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* 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,

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of loops and a final horizontal stroke.

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

Pathogeniteitsclassificatie van de bacteriën *Thermosinus carboxydivorans*, *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila*

COGEM advies CGM/171222-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van Syngip B.V. (IG 17-243, IG 17-245 en IG 17-247) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoorten *Thermosinus carboxydivorans*, *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila* en plaatsing van deze bacteriën 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, zonder dat een aanvrager daar een milieurisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

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.

3. Beschrijving van de organismen

3.1 *Thermosinus carboxydivorans*

T. carboxydivorans behoort tot het geslacht *Thermosinus* en is tot nu toe de enige bekende soort die tot dit genus behoort. De bacterie is geïsoleerd uit een thermische bron (warmwaterbron) in het Yellowstone park in de Verenigde Staten. *T. carboxydivorans* is een obligaat anaerobe, thermofiele, chemolithotrofe, gebogen, staafvormige, gramnegatieve, niet-sporenvormende bacterie. Chemolithotrofen halen energie uit anorganische verbindingen. *T. carboxydivorans* gebruikt koolstofmonoxide als bron van energie en kan ijzer reduceren. *T. carboxydivorans* heeft zijn nikkel-ijzer-koolmonoxidehydrogenase hoogstwaarschijnlijk via horizontale genoverdracht gekregen van een andere bacterie.² *T. carboxydivorans* groeit tussen de 40 en 68°C met een optimum van 60°C.³ Het genoom van de bacterie is gekarakteriseerd en is circa 2,9 Mbp groot.⁴

3.2 *Thermincola ferriacetica* en *Thermincola carboxydiphila*

T. ferriacetica en *T. carboxydiphila* behoren tot het geslacht *Thermincola*. Beide bacteriën zijn uit thermische bronnen in Rusland geïsoleerd.^{5,7}

T. ferriacetica is een al dan niet gebogen, sporenvormende, grampositieve, staafvormige, obligaat anaerobe, thermofiele bacterie. De bacterie is onder meer in staat om acetaat te oxideren. Het is een facultatief chemolithoautotroof en kan ijzer reduceren. *T. ferriacetica* groeit tussen de 45 en 70°C met een optimum rond de 60°C.⁵ Er is een 3,2 Mbp 'draft' genoomsequentie van *T. ferriacetica* beschikbaar.⁶

T. carboxydiphila is een obligaat anaerobe, staafvormige, grampositieve, niet-sporenvormende thermofiele bacterie. Het is een lithotroof die energie verkrijgt door koolstofmonoxide te oxideren. Het gebruikt koolstofmonoxide als enige bron van energie. Verder is de bacterie alkalitolerant. *T. carboxydiphila* groeit tussen de 37 en 68°C met een optimum van 55°C.⁷ Het genoom van *T. carboxydiphila* is niet gekarakteriseerd.

4. Eerder COGEM advies en classificaties andere beoordelende instanties

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over soorten behorende tot de genera *Thermosinus* en *Thermincola*. De 'Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAUA) heeft *T. carboxydivorans*, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* in de laagste risicogroep ingedeeld (groep 1).⁸

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

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 bacteriën weinig literatuur over apathogeniteit voor handen.

T. carboxydivorans, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* zijn anaerobe bacteriën met hoge groeitemperaturen (thermofielen). Zo groeit *T. carboxydivorans* tussen de 40 en 68°C met een optimum van 60°C.³ *T. ferriacetica* tussen 45 en 70°C met een optimum rond de 60°C.⁵ En *T. carboxydiphila* tussen 37 en 68°C met een optimum van 55 °C.⁷ De hoge optimale groeitemperaturen van deze bacteriën maken het zeer onwaarschijnlijk dat zij pathogeen zijn voor mens of dier. Er zijn geen publicaties bekend waarin de drie bacteriesoorten aangemerkt worden als ziekteverwekkend voor mens, dier of plant.

Op basis hiervan is de COGEM van oordeel dat de bacteriën niet pathogeen zijn. Zij adviseert daarom *T. carboxydivorans*, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van mening dat *T. carboxydivorans*, *T. ferriacetica* en *T. carboxydiphila* in aanmerking komen 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. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezocht: 12 december 2017)
2. Tectmann SM *et al.* (2012). Evidence for horizontal gene transfer of anaerobic carbon monoxide dehydrogenases. *Front. Microbiol.* 3: 132
3. Sokolova TG *et al.* (2004). *Thermosinus carboxydivorans* gen. nov., sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, carbon-monoxide-oxidizing, hydrogenogenic bacterium from a hot pool of Yellowstone National Park. *Int. J. Evol. Microbiol.* 54: 2353-2359
4. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Thermosinus+carboxydivorans> (bezocht: 15 december 2017).
5. Zavarzina DG *et al.* (2007). *Thermincola ferriacetica* sp. nov., a new anaerobic, thermophilic, facultatively chemolithoautotrophic bacterium capable of dissimilatory Fe(III) reduction. *Extremophiles* 11: 1-7
6. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/LGTE00000000> (bezocht: 15 december 2017).
7. Sokolova TG *et al.* (2005). *Thermincola carboxydiphila* gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, carboxydophilic, hydrogenogenic bacterium from a hot spring of the Lake Baikal area. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 2069-2073

8. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (2015). Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe. <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-466.html> (bezocht: 14 december 2017).