

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

DATUM 18 juni 2020
KENMERK CGM/200618-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie bacteriesoort *Leptotrichia wadei*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Leptotrichia wadei' (IG 20-125_2.13-000), ingediend door het Erasmus MC, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

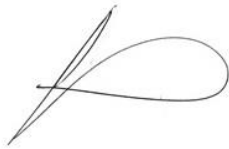
De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Leptotrichia wadei*, en de plaatsing van deze stam op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

L. wadei is voor het eerst geïsoleerd uit het speeksel van een gezond persoon in 2004. Deze bacterie groeit het best onder zuurstofarme omstandigheden en heeft een optimale groeitemperatuur van 37 °C. *L. wadei* maakt als commensaal onderdeel uit van de flora van gezonde personen en leeft onder meer in de mondholte. Er zijn enkele gerapporteerde gevallen waarbij de bacterie geassocieerd is met ziekte bij patiënten met een verzwakt immuunsysteem.

De COGEM heeft geen aanwijzingen dat *L. wadei* ziekte veroorzaakt bij gezonde mensen, dieren of planten. Gezien het bovenstaande adviseert de COGEM om *L. wadei* 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 de bacteriesoort *Leptotrichia wadei*

COGEM advies CGM/200618-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van het Erasmus MC is de COGEM gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Leptotrichia wadei* (IG 20-125) en over de plaatsing van deze bacterie op Bijlage 2, lijst A1 van de 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 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 milieurisicobeoordeling 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 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. Opportunisten

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.

4. *Leptotrichia*

L. wadei behoort binnen de familie *Leptotrichiaceae* tot het geslacht *Leptotrichia*. Deze genusnaam is in 1879 in het leven geroepen.⁴ Soorten behorende tot dit geslacht zijn facultatief anaerobe/aerobe Gramnegatieve staafvormige bacteriën die geen endosporen vormen.³ Ze groeien meestal na isolatie in eerste instantie het best onder anaerobe kweekcondities; echter de meeste stammen kunnen in de aanwezigheid van koolstofdioxide ook onder aerobe condities gecultiveerd worden.² *Leptotrichia* fermenteren koolhydraten, waarbij als metabolisch eindproduct melkzuur wordt gevormd.^{3,4}

Leptotrichia-soorten maken als commensaal onderdeel uit van de flora van gezonde personen. Ze komen voor in de humane mondholte waar ze worden aangetroffen in tandplak. Verder komen *Leptotrichia* ook voor in de darmen, het urogenitaal stelsel en vrouwelijke genitale kanaal van de mens.^{3,4} *Leptotrichia*-soorten worden geassocieerd met periodontale ziekten (tandvleesaandoeningen) en abscessen in de mondholte, en zijn ook onder meer beschreven als veroorzakers van opportunistische bloedweginfecties leidend tot bacteriëmie bij personen met een onderliggend ziektebeeld of bij beemergtransplantatiepatiënten.^{3,4,7}

4.1 *Leptotrichia wadei*

L. wadei is voor het eerst geïsoleerd uit het speeksel van een gezond persoon in 2004.⁵ De bacterie groeit het best onder anaerobe omstandigheden en heeft een optimale groeitemperatuur van 37 °C.⁵ De bacterie maakt als commensaal onderdeel uit van de flora van gezonde personen en leeft onder meer in de mondholte. Er zijn enkele gerapporteerde gevallen waarbij de bacterie geassocieerd was met ziekte bij patiënten met een verzwakt immuunsysteem.^{3,4} *L. wadei* is onder meer aangetroffen in broncho-alveolaire wasvloeistof (wassings van de bronchiolen en de longblaasjes) van een patiënt met leukocytose, hypoxemia en dyspneu.^{3,6} Ook is de bacterie geïsoleerd uit het bloed en vruchtwater van een patiënt met een wond en ademhalingsproblemen.^{3,7} Bij patiënten met cariës werd de bacterie aangetroffen in speeksel, tandplak en slijmvlies van de mondholte.^{3,8,9,10} In al deze gevallen werden naast *L. wadei* ook andere micro-organismen in het klinisch-isolaat aangetroffen.³

Het genoom van *L. wadei* DSM 19758 bestaat uit één chromosoom en vier plasmiden (in totaal 2,4 Mb).¹¹ Het genoom bevat veel genen waarvan de functie (nog) niet bekend is. Daarnaast zijn er genen coderend voor toxine-antitoxine systemen aanwezig. Er zijn echter geen geannoteerde genen aanwezig die coderen voor toxines, type III of type IV secretiesystemen, of andere virulentiefactoren.

5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *L. wadei*. Wel heeft zij een andere soort binnen het geslacht *Leptotrichia*, namelijk *Leptotrichia amnionii* ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.¹²

6. Classificaties van andere organisaties

In de Duitse ‘Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen’ (DSMZ) is *L. wadei* ingedeeld in risicogroep 1.¹³ De ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft de bacteriesoort als apathogeen ingedeeld in risicogroep 1.¹⁴ De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. 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 voorhanden.

L. wadei is voor het eerst beschreven in 2004 toen de bacterie werd geïsoleerd uit het speeksel van een gezonde persoon. Deze bacterie groeit het best onder anaerobe omstandigheden en heeft een optimale groeitemperatuur van 37 °C. *L. wadei* maakt als commensaal onderdeel uit van de flora van gezonde personen en leeft onder meer in de mondholte. Er zijn enkele gevallen beschreven waarbij de bacterie geassocieerd werd met ziekte bij immuungecompromitteerden. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen aanwijzingen dat *L. wadei* ziekte veroorzaakt bij gezonde mensen, dieren of planten. De genoomsequentie van *L. wadei* is bekend en er zijn geen sequenties die wijzen op toxine-productie of virulentiefactoren.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *L. wadei* voldoet aan criterium a van pathogeniteitsklasse 1. Zij adviseert daarom *L. wadei* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *L. wadei* in aanmerking komt voor plaatsing op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.
<https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072> (bezocht: 5 juni 2020)
2. Hofstad T & Olsen I (2010). *Fusobacterium* and *Leptotrichia*. In: Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections.

3. Eribe ERK & Olsen I (2017). *Leptotrichia* Species in Human Infections II. J. Oral Microbiol. 9: 1368848
4. Eribe ERK & Olsen I (2008). Mini-review *Leptotrichia* species in human infections. Anaerobe. 14: 131-137
5. Eribe ERK *et al.* (2004). Genetic Diversity of *Leptotrichia* and Description of *Leptotrichia Goodfellowii* Sp. Nov., *Leptotrichia Hofstadii* Sp. Nov., *Leptotrichia Shahii* Sp. Nov. And *Leptotrichia Wadei* Sp. Nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54: 583-592
6. Kawanami T *et al.* (2009). Severe pneumonia with *Leptotrichia* sp. detected predominantly in bronchoalveolar lavage fluid by use of 16S rRNA gene sequencing analysis. J Clin Microbiol. 47:496–498.
7. Couturier MR *et al.* (2012) *Leptotrichia* bacteremia in patients receiving high-dose chemotherapy. J. Clin. Microbiol. 50:1228–1232.
8. Wolff D *et al.* (2013) Bacterial biofilm composition in caries and caries-free subjects. Caries Res. 47:69–77.
9. Zhu X *et al.* (2012). Possible variation of the human oral bacterial community after wearing removable partial dentures by DGGE. World J. Microbiol. Biotechnol. 28:2229–2236.
10. Johansson I *et al.* (2016). The microbiome in populations with a low and high prevalence of caries. J. Dent. Res. 95:80–86.
11. National Center for Biotechnology Information (NCBI) Genome database. *Leptotrichia wadei* DSM 19758. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=wadei> (bezocht: 12 juni 2020)
12. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/181112-03
13. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH' (DSMZ). *Leptotrichia wadei* <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/details/culture/DSM-19758> (bezocht: 5 juni 2020)
14. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). TRBA 466 „Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen“ https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf?__blob=publicationFile&v=8 (bezocht: 5 juni 2020)