

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 22 januari 2024
KENMERK CGM/240122-01
ONDERWERP Advies over werkzaamheden met gg-Mycobacteriumsoorten van PG3

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag over het dossier IG 23-073 getiteld 'Het maken van en werken met mutanten (deleties, complementaties en reporter constructen) in intracellulair levende bacteriële pathogenen op ML-III niveau' ingediend door de Stichting Wageningen Research te Lelystad, deelt de COGEM u het volgende mee.

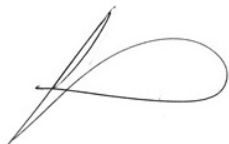
Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over werkzaamheden met de genetisch gemodificeerde (gg-)bacteriën, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* en *Mycobacterium microti*. Deze mycobacteriën veroorzaken de ziekte tuberculose bij mensen en andere zoogdieren. Tuberculose wordt gekenmerkt door aanhoudend hoesten, gewichtsverlies, vermoeidheid en koorts. Door het kuchen en hoesten van een geïnfecteerd persoon of dier kunnen de mycobacteriën zich via minuscule druppeltjes in de lucht, zogeheten aerosolen, verspreiden en anderen infecteren. Verspreiding via de lucht wordt als primaire verspreidingsroute aangewezen, al is besmetting via andere bronnen ook mogelijk. De vier soorten mycobacteriën zijn eerder ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3, waardoor werkzaamheden plaats moeten vinden op inperkingsniveau ML-III. Hierbij dienen open handelingen met de mycobacteriën in een veiligheidskabinet van klasse 2 (VK-II) uitgevoerd te worden.

De COGEM is van oordeel dat het uitvoeren van de betreffende werkzaamheden in een VK-II afdoende is om de verspreiding van tuberculose-veroorzakende (gg-)mycobacteriën via de lucht, in te perken. De COGEM is van oordeel dat het dragen van een mond- en neuskapje (indicatie P2 of hoger) niet noodzakelijk is, mits het voorschrift om open handelingen met (gg-) *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* uit te voeren in een VK-II, strikt wordt nageleefd. De COGEM acht bij het uitvoeren van de voorgenomen werkzaamheden met de (gg-)mycobacteriën op ML-III, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

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. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
 - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's,
 DG Milieu en Internationaal

Werkzaamheden met genetisch gemodificeerde Mycobacteriumsoorten van pathogeniteitsklasse 3

COGEM advies CGM/240122-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-)Mycobacteriumsoorten van pathogeniteitsklasse 3 (PG3). De betreffende soorten zijn *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* en *Mycobacterium microti*. De adviesvraag is gesteld naar aanleiding van een vergunningaanvraag van de Stichting Wageningen Research, te Lelystad (IG 23-073). De COGEM is gevraagd of het dragen van een mond- en neuskapje (indicatie P2 of hoger) bij werkzaamheden met gg-Mycobacteriumsoorten van PG3 noodzakelijk is, naast de standaard voorschriften op inperkingsniveau ML-III.

2. Achtergrondinformatie over de Mycobacteriumsoorten

De vier soorten *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* behoren tot het *M. tuberculosis* soortencomplex. Soorten die tot dit complex behoren, veroorzaken de ziekte tuberculose en kunnen een verschillende gastheerspecificiteit hebben.

2.1 *Mycobacterium tuberculosis*

M. tuberculosis is een bacteriesoort behorende tot de klasse van Actinomyceten.¹ De bacteriesoort is een intracellulair pathogeen die primair macrofagen infecteert.² *M. tuberculosis* is de belangrijkste oorzaak van tuberculose bij de mens. Tuberculose is een veel voorkomende ziekte, waaraan wereldwijd in 2021 1,6 miljoen mensen stierven.³ Besmetting vindt aerogeen plaats⁴, waarna de infectie met de bacterie doorgaans asymptomatisch verloopt. Bij 5 tot 10% van de geïnfekteerde mensen ontwikkelt zich gedurende hun leven de ziekte tuberculose.³ Klassieke symptomen zijn een aanhoudende hoest, nachtzweeten, gewichtsverlies, koorts en vermoeidheid. De bacterie kan na infectie latent aanwezig blijven. Tuberculose is moeilijk te behandelen en vereist het gebruik van een combinatie van verschillende antibiotica. De behandeling duurt meestal zes maanden. Wereldwijd wordt een geattenueerde stam van *Mycobacterium bovis*, *M. bovis* 'Bacille de Calmette et Guérin' (BCG) gebruikt als vaccin tegen tuberculose.⁵

2.2 *Mycobacterium bovis*

M. bovis is een langzaam groeiende bacterie met een verdubbelingstijd van 16-24 uur en is de hoofdveroorzaker van tuberculose in dieren, waaronder gedomesticeerde koeien. De bacterie heeft een breed gastheerbereik en kan vele zoogdieren infecteren, inclusief de mens.⁸ Natuurlijke reservoirs van *M. bovis* zijn onder andere buidelratten ofwel voskoesoes (*Trichosurus vulpecula*), Europese dassen (*Meles meles*), kafferbuffels (*Syncerus caffer*), wilde zwijnen (*Sus scrofa*) en herten in Noord-Amerika (*Odocoileus virginianus*).⁶ Een *M. bovis* infectie kan zich onder gedomesticeerde koeien verspreiden door het inhaleren van geïnfekteerde aerosolen van een hoestend of niezend dier met open tuberculose, of via besmette stofdeeltjes.⁷ In koeien vindt voornamelijk horizontale overdracht van *M. bovis* plaats.⁷

Humane tuberculose veroorzaakt door *M. bovis* komt vooral voor in ontwikkelingslanden door consumptie van ongepasteuriseerde melkproducten.⁸ De symptomen van humane tuberculose veroorzaakt door *M. bovis* zijn koorts, zwakheid, nachtelijk zweten en gewichtsverlies.⁸

2.3 *Mycobacterium africanum*

M. africanum komt voornamelijk voor in West-Afrika, en is naar schatting verantwoordelijk voor de helft van de tuberculosegevallen bij mensen die hier leven.⁹ Studies naar *M. africanum* tonen aan dat de progressie van de ziekte langzamer verloopt, in vergelijking met tuberculose veroorzaakt door *M. tuberculosis*.⁹ Alhoewel *M. africanum* is geïsoleerd uit koeien en varkens, is het niet duidelijk of er een dierlijk reservoir is voor deze bacteriesoort.¹⁰

2.4 *Mycobacterium microti*

M. microti is oorspronkelijk geïdentificeerd in Engeland, als pathogeen in wilde knaagdieren, waaronder Aardmuizen (*Microtus agrestis*).¹¹ *M. microti* is inmiddels in een groot aantal verschillende diersoorten aangetroffen, waaronder ook huisdieren zoals honden en katten, vee zoals geiten en runderen, en grotere wilde dieren zoals dassen en zwijnen.¹² *M. microti* is endemisch in bepaalde gebieden in Groot-Brittannië.¹² Infectie van mensen met *M. microti* is zeldzaam en wordt vooral gevonden in personen met onderliggende aandoeningen.^{13,14}

3. Verspreiding van mycobacteriën

Besmetting van de mens met tuberculose-veroorzakende mycobacteriën vindt aerogeen plaats.⁴ Al in 1950 hebben studies verspreiding via aerosolen als primaire transmissieroute aangewezen voor tuberculose-veroorzakende mycobacteriën.^{15,16} In deze studies werden cavia's blootgesteld aan aerosolen van infectieuze tuberculosepatiënten.¹⁷ De afmetingen van infectieuze druppels met mycobacteriën die door infectieuze patiënten worden uitgescheiden zijn 0,65 µm of groter.¹⁸ Alhoewel verspreiding via de lucht als primaire transmissieroute wordt gezien, is verspreiding via andere bronnen zoals besmette stofdeeltjes en ongepasteuriseerde melkproducten in het geval van *M. bovis*, eveneens mogelijk.^{7,8,16}

4. Voorgenomen werkzaamheden

De voorgenomen werkzaamheden betreffen het transformeren van *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* met genen coderend voor fluorescente eiwitten, en het infecteren van animale cellen met deze gg-mycobacteriën. De werkzaamheden zullen plaatsvinden op inperkingsniveau ML-III. Op inperkingsniveau ML-III gelden standaard werkvoorschriften, waaronder het uitvoeren van open handelingen in een veiligheidskabinet van klasse 2 (VK-II).¹⁹ In het verleden is door de vergunningverlener voor werkzaamheden met *M. tuberculosis* stammen van PG3, naast de standaard voorschriften op ML-III, het dragen van een mond- en neuskapje (indicatie P2 of hoger) voorgeschreven. In de vergunningaanvraag wordt gesteld dat het strikt uitvoeren van alle open handelingen in het VK-II afdoende is om verspreiding van mycobacteriën te voorkomen, derhalve zou het dragen van een mond- en neuskapje geen meerwaarde hebben.

5. Eerder COGEM advies

De vier soorten *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* zijn ingedeeld in PG3.²⁰ De COGEM heeft eerder geadviseerd over werkzaamheden met vier verzwakte gg-*M. tuberculosis* stammen, waarbij werd verzocht om omlaagschaling van ML-III naar ML-II.²¹ Daarnaast heeft zij geadviseerd over werkzaamheden met een gg-*M. bovis* variant met een gen uit *Mycobacterium leprae*, eveneens een pathogeen van PG3.²² De COGEM heeft nog niet eerder over werkzaamheden met *M. microti* en *M. africanum* geadviseerd.

6. Overweging en advies

De vier soorten *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* veroorzaken tuberculose en hebben ieder een andere gastheerspecificiteit, variërend van mens tot verschillende andere zoogdieren. Een klassiek symptoom van tuberculose is het hoesten en kuchen, waarbij de mycobacteriën via aerosolen vrijkomen uit de patiënt en worden geïnhaled door een ander. Aerogene transmissie wordt als primaire transmissieroute gezien, al is verspreiding via andere bronnen zoals besmette stofdeeltjes en ongepasteuriseerde melkproducten in het geval van *M. bovis*, ook mogelijk.^{7,8,16} Samenvattend, is besmetting met *M. tuberculosis* vooral mogelijk wanneer de bacterie in de lucht wordt gebracht door het hoesten van een patiënt of manipulatie van respiratoir materiaal van een patiënt. Het bovenstaande en de aard van de werkzaamheden in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat het uitvoeren van de werkzaamheden in een VK-II afdoende is om de aerogene verspreiding van tuberculoseveroorzakende (gg-)mycobacteriën in te perken. De COGEM wijst er wel op dat een additioneel voordeel van het dragen van een mond- en neuskapje is dat accidenteel contact tussen besmette handen of handschoenen en neus of mond voorkomen wordt.

De COGEM is van oordeel dat het dragen van een mond- en neuskapje (indicatie P2 of hoger) niet noodzakelijk is, mits het voorschrift om open handelingen met (gg-) *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* uit te voeren in een VK-II, strikt wordt nageleefd. De COGEM acht bij het uitvoeren van de voorgenenomen werkzaamheden met (gg-) *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum* en *M. microti* op ML-III, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Referenties

1. NCBI taxonomy browser – *Mycobacterium tuberculosis*
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=1773&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (bezocht op 12 januari 2024)
2. Smith I (2003). *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. Clin. Microbiol. Rev. 16: 463-496
3. World Health Organisation. Tuberculosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis>. (bezocht op 12 januari 2024)
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tuberculosis.
<https://www.cdc.gov/tb/topic/basics/howtbspreads.htm> (bezocht op 12 januari 2024)
5. Fatima S *et al.* (2020). Tuberculosis vaccine: A journey from BCG to present. Life Sci. 252: 117594

6. Palmer MV (2013). *Mycobacterium bovis*: characteristics of wildlife reservoir hosts. *Transbound. Emerg. Dis.* 60: 1-13
7. Cousins DV (2001). *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *Rev. Sci. Tech.* 20: 71-85
8. Esteban J & Muñoz-Egea MC (2016). *Mycobacterium bovis* and Other Uncommon Members of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Microbiol. Spectr.* doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0021-2016
9. Silva ML *et al.* (2022). Tuberculosis caused by *Mycobacterium africanum*: knowns and unknowns. *PLoS Pathog.* 18: e1010490
10. Alfredsen S & Saxegaard F (1992). An outbreak of tuberculosis in pigs and cattle caused by *Mycobacterium africanum*. *Vet. Rec.* 131: 51-53
11. Burthe S *et al.* (2008). Tuberculosis (*Mycobacterium microti*) in wild field vole populations. *Parasitology.* 135: 309-317
12. Tagliapietra V *et al.* (2021). *Mycobacterium microti* at the environment and wildlife interface. *Microorganisms.* 9: 20844
13. Niemann S. *et al.* (2000). Two cases of *Mycobacterium microti* derived tuberculosis in HIV-negative immunocompetent patients. *Emerg. Infect. Dis.* 6: 539-542
14. Frank W *et al.* (2009). *Mycobacterium microti*-pulmonary tuberculosis in an immunocompetent patient. *Wien. Klin. Wochenschr.* 121: 282-286
15. Martinez L *et al.* (2019). Detection, survival and infectious potential of *Mycobacterium tuberculosis* in the environment: a review of the evidence and epidemiological implications. *Eur. Respir. J.* 53: 1802302
16. Shiloh M. U. (2016). Mechanisms of mycobacterial transmission: how does *Mycobacterium tuberculosis* enter and escape from the human host. *Future Microbiol.* 11: 1503-1506
17. Riley R *et al.* (1959). Aerial dissemination of pulmonary tuberculosis. A two-year study of contagion in a tuberculosis ward. *Am. J. Hyg.* 70: 185-196
18. Fennelly KP *et al.* (2004). Cough-generated aerosols of *Mycobacterium tuberculosis*: a new method to study infectiousness. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 169: 604-609
19. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. wetten.nl - Regeling - Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 - BWBR0035072 (overheid.nl) (bezocht op 12 januari 2024)
20. COGEM (2023). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van apathogene en pathogene bacteriën. COGEM advies CGM/231011-01
21. COGEM (2022). Inschaling van werkzaamheden met vier verzwakte genetisch gemodificeerde *Mycobacterium tuberculosis* stammen. COGEM advies CGM/221206-01
22. COGEM (2022). Inschaling infectiewerkzaamheden met recombinant *Mycobacterium bovis* BCG-PGL-I. COGEM advies CGM/220530-01