

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer Ch.A. Jansen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 12 mei 2025
KENMERK CGM/250512-01
ONDERWERP Advies Pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Butyricoccus pullicaecorum*

Geachte heer Jansen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Butyricococcus pullicaecorum' (IG 250037_001), ingediend door de Stichting Amsterdam UMC, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

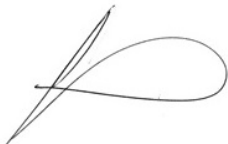
De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacterie *Butyricoccus pullicaecorum* en de plaatsing van deze soort op Bijlage 2, Lijst A1 van de Regeling ggo. Deze bijlage bestaat uit lijsten van gastheerorganismen die niet ziekmakend zijn voor mens, dier of plant.

B. pullicaecorum is een bacterie die onderdeel uitmaakt van de gezonde menselijke darmflora. De bacterie produceert butyraat, een stof die verschillende positieve effecten heeft op de gezondheid van de darm. Vanwege deze eigenschap wordt de bacterie onderzocht voor zijn mogelijke gezondheidstoepassingen als probiotica. De veiligheid van de toediening van *B. pullicaecorum* is aangetoond in het laboratorium en in dierstudies. De bacterie is ook getest bij gezonde mensen en veilig bevonden. Er zijn geen tekenen dat *B. pullicaecorum* stoffen maakt die ziekten kunnen veroorzaken. Er zijn ook geen aanwijzingen in de wetenschappelijke literatuur dat deze soort ziekteverwekkend is voor mens, dier of plant.

Concluderend is de COGEM van oordeel dat de bacteriesoort *B. pullicaecorum* niet ziekmakend is, en adviseert zij om deze bacteriesoort 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 stylized 'S' followed by a loop and a horizontal stroke.

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

Advies Pathogeniteitsclassificatie van de bacterie *Butyricoccus pullicaecorum*

COGEM-advies CGM/250512-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Stichting Amsterdam UMC, is de COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de bacteriesoort *Butyricoccus pullicaecorum* (IG 250037) en de plaatsing van deze soort op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.¹ Deze bijlage bestaat uit lijsten van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling 'genetisch gemodificeerde organismen' (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de 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. *Butyricoccus pullicaecorum*

De bacteriesoort *B. pullicaecorum* (familie *Oscillospiraceae*) is voor het eerst in 2008 geïsoleerd uit de blindedarm (caecum) van een kip en maakt deel uit van de gezonde darmflora van onder andere mensen.² Het is een Gram-positieve, anaerobe bacterie die behoort tot het Clostridium cluster IV (ook wel: *Clostridium leptum*-cluster) en het fyllum *Bacillota*.^{2,3} Het Clostridium cluster IV omvat verschillende bacteriesoorten die fylogenetisch verwant zijn en alle een belangrijke rol spelen in de gezondheid van de darmen. Samen maken deze bacteriën 16-25% uit van het microbioom.⁴

B. pullicaecorum is een butyraat-producerende bacterie. Butyraat draagt bij aan een gezonde darmflora door zijn anti-inflammatoire werking en rol in het versterken van de darmbarrière.⁵ Butyraat-producerende bacteriën zijn onderwerp van onderzoek door hun potentiële toepassingen als probiotica in mens en dier. Bij kippen kunnen deze bacteriën mogelijk bescherming bieden tegen Salmonella-infecties door verminderde invasie en kolonisatie, en het stimuleren van de groei van epitheelcellen in de darm.² In de mens worden deze bacteriën onderzocht vanwege de mogelijke toepassing als probiotica bij Inflammatory Bowel Disease (IBD), zoals de ziekte van Crohn en colitis ulcerosa. Bacteriën uit Clostridium cluster IV, waaronder *Butyricoccus*-soorten, komen verminderd voor in het microbioom van patiënten met IBD vergeleken met gezonde mensen.^{4,5}

3.1 Onderzoek naar de veiligheid van *B. pullicaecorum*

De veiligheid en potentiële effecten van de toediening van *B. pullicaecorum* zijn onderzocht in verschillende *in vitro*- en dierstudies. De veiligheid van *B. pullicaecorum* is onder andere onderzocht in een orale toxiciteitstest, waarbij de bacterie is toegediend aan Specific Pathogen Free (SPF) ratten waarna geen negatieve effecten zijn waargenomen.⁶ In een andere studie leidde orale toedieningen van *B. pullicaecorum* in een rattenmodel voor colitis tot een vermindering van inflammatie en versterkt de bacterie de epitheelbarrière in een *in vitro* darmcelmodel.⁵

Verder zijn in een *in vitro* studie en een dierstudie de mogelijke effecten van *B. pullicaecorum* in blaas⁷- en darmkanker⁸ onderzocht. Uit de *in vitro* studie bleek dat *B. pullicaecorum* bij blaaskankercellen een anti-kanker effect had door het remmen van groei van kankercellen via de regulatie van de celcyclus, celgroei, apoptose en genexpressie. Bij toediening van *B. pullicaecorum* aan muizen met colorectale kanker zorgde de bacterie niet voor negatieve effecten.

Naast *in vitro* en dierstudies is *B. pullicaecorum* ook toegediend aan gezonde mensen om de veiligheid, verdraagbaarheid en het effect op het microbioom in de mens verder te onderzoeken.⁹ Hieruit is gebleken dat *B. pullicaecorum* veilig en goed verdraagbaar is voor gezonde deelnemers en geen versturende werking heeft op het microbioom van de deelnemers.

De genomsequentie van *B. pullicaecorum* is bepaald en hierin zijn geen bekende virulentiefactoren gevonden. De bacterie bevat enkele antibioticaresistentiegenen, maar blijft gevoelig voor lage concentraties van β -lactam-antibiotica, tetracycline, clindamycine, erythromycine, vancomycine en chloramfenicol.⁶

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *B. pullicaecorum* of andere bacteriën uit het genus *Butyricoccus*. De COGEM heeft *Faecalibacterium prausnitzii*, een butyraat-producerende bacterie die behoort tot het Clostridium cluster IV en die nauwverwant is aan *B. pullicaecorum* als apathogene bacterie geïdentificeerd.¹⁰ Daarnaast zijn *Clostridium leptum* (die tegenwoordig beschouwd wordt als subgroep van microbiota; de *Clostridium leptum*-groep ookwel Clostridium cluster IV⁴) en de nauwverwante *Eubacterium desmolans* beide opgenomen op Bijlage 2, lijst A1, de lijst met apathogene bacteriën.

5. Classificatie door andere organisaties

Het Duitse 'Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAUA) die pathogeniteit van micro-organismen voor de mens beoordeelt, heeft in de 'Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe' (TRBA) 466 ('Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea)) in Risikogruppen' de soort *B. pullicaecorum* ingedeeld in risicogroep 1.¹¹ Zover bekend bij de COGEM komt *B. pullicaecorum* niet voor in de classificaties van andere instanties zoals de 'Belgian Biosafety Server'¹², de 'American Type Culture Collection' (ATCC)¹³ of de Canadese 'Public Health Agency'¹⁴. Tevens staat *B. pullicaecorum* niet vermeld als plantpathogeen in 'online databases' met informatie over bacteriesoorten die ziekten bij planten veroorzaken.^{15,16,17,18} De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en Advies

De bacteriesoort *B. pullicaecorum* is voor het eerst geïsoleerd uit de blindedarm van kippen en behoort tot het Clostridium cluster IV. Dit is een groep darmbacteriën die voor 16-25% onderdeel uitmaakt van het microbiom van de gezonde mens. *B. pullicaecorum* produceert butyraat en wordt vanwege deze eigenschap onderzocht als mogelijke probiotica voor verschillende gezondheidstoepassingen. De veiligheid van de bacterie is aangetoond in verschillende *in vitro*- en dierstudies en is daarnaast ook in een humane studie aangetoond. Er zijn in de wetenschappelijke literatuur geen aanwijzingen dat deze soort pathogeen is voor de mens of andere dieren. Tevens staat *B. pullicaecorum* niet vermeld als plantpathogeen in internationale online databases met informatie over bacteriesoorten die ziekten bij planten veroorzaken.

Concluderend, is de COGEM van oordeel dat *B. pullicaecorum* apathogeen is en adviseert deze in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Zij adviseert deze soort op te nemen in bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemanipuleerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072> (bezoekt op 2 april 2025)
2. Eeckhaut V et al. (2008). *Butyricoccus pullicaecorum* gen. nov., sp. nov., an anaerobic, butyrate-producing bacterium isolated from the caecal content of a broiler chicken. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 2799-2802
3. NCBI Taxonomy browser. *Butyricoccus pullicaecorum*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=501571&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> (bezoekt op 6-05-2025)
4. Kabeerdoss J et al. (2013). *Clostridium leptum* group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. *BMC Gastroenterol.* 13: 1-8
5. Eeckhaut V et al. (2013). *Butyricoccus pullicaecorum* in inflammatory bowel disease. *Gut* 62: 1745-1752

6. Steppe M et al. (2014). Safety assessment of the butyrate-producing *Butyricoccus pullicaecorum* strain 25-3T, a potential probiotic for patients with inflammatory bowel disease, based on oral toxicity tests and whole genome sequencing. *Food Chem. Toxicol.* 72: 129-137
7. Wang Y et al. (2021). Supplementation of probiotic *Butyricoccus pullicaecorum* mediates anticancer effect on bladder urothelial cells by regulating butyrate-responsive molecular signatures. *Diagnostics* 11: 2270
8. Chang S et al. (2020). A gut butyrate-producing bacterium *Butyricoccus pullicaecorum* regulates short-chain fatty acid transporter and receptor to reduce the progression of 1, 2-dimethylhydrazine-associated colorectal cancer. *Oncol. Letters* 20: 327
9. Boesmans L et al. (2018). Butyrate producers as potential next-generation probiotics: safety assessment of the administration of *Butyricoccus pullicaecorum* to healthy volunteers. *MSystems* 3: 10-1128
10. COGEM (2013). Classificatie van de darmbacteriën *Akkermansia muciniphila* en *Faecalibacterium prausnitzii*. COGEM-advies CGM/130826-01
11. Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) 466 "Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen" (2015). https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-undTechnische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-466.pdf?__blob=publicationFile&v=8 (bezocht op 24-04-2025)
12. Belgian Biosafety Server. <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> (bezocht op 24-04-2025)
13. American Type Culture Collection. Microbe products. <https://www.atcc.org> (bezocht op 24-04-2025)
14. Public Health Agency of Canada. ePATHogen - Risk Group Database. <https://health.canada.ca/en/epathogen> (bezocht op 24-04-2025)
15. American Phytopathological Society (APS). <https://www.apsnet.org/Pages/default.aspx> (bezocht op 1-05-2025)
16. Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS). <https://www.aphis.usda.gov/> (bezocht op 1-05-2025)
17. Plant-Host Interactions database. www.phi-base.org/searchFacet.htm?queryTerm (bezocht op 1-05-2025)
18. EPPO (2024). EPPO-Q-bank. <https://qbank.eppo.int> (bezocht op 1-05-2025)