

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 28 juni 2017
KENMERK CGM/170628-02
ONDERWERP Advies 'Pathogeniteitsclassificatie 13 schimmelsoorten'

Geachte mevrouw Dijkma,

De COGEM adviseert over de pathogeniteitsklassen van micro-organismen. De indeling in pathogeniteitsklassen is van belang voor de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's). De COGEM heeft een onderzoek laten uitvoeren naar de pathogeniteit van 13 schimmelsoorten en komt op grond van het onderzoeksrapport tot het volgende advies.

Samenvatting:

In de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo) worden (micro-)organismen ingedeeld in pathogeniteitsklassen. Deze indeling is van direct belang voor de inschaling van werkzaamheden met ggo's.

In opdracht van de COGEM is in 2015 een onderzoek uitgevoerd naar bewaarziektes veroorzakende schimmels die ook de levende plant aantasten. Uit dit onderzoek kwamen 13 schimmelsoorten naar voren die mogelijk pathogeen zijn, maar verder onderzoek was noodzakelijk om hierover uitsluitsel te kunnen geven.

De COGEM heeft een onderzoeksproject uit laten voeren om de pathogeniteit van deze 13 schimmelsoorten voor planten, schimmels, nematoden en arthropoden te bepalen.

Op basis van het daaruit voortgekomen onderzoeksrapport heeft de COGEM in het onderhavige advies de pathogeniteitsklasse van deze 13 schimmelsoorten vastgesteld.


Van de onderzochte schimmelsoorten bleken er 10 pathogeen voor één of meer van de aangegeven groepen. De COGEM adviseert deze in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

Twee schimmelsoorten zijn niet ziekteverwekkend en de COGEM adviseert om deze soorten te handhaven in pathogeniteitsklasse 1. Recent is één van de andere soorten opgesplitst in vier nauw verwante soorten. Aangezien de schimmelsoorten niet pathogeen zijn, adviseert de COGEM om deze in te delen in pathogeniteitsklasse 1.



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. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Pathogeniteitsclassificatie van 13 schimmelsoorten

COGEM advies CGM/170628-02

1. Inleiding

In de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (Regeling ggo) worden (micro-)organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen.¹ Deze indeling start met pathogeniteitsklasse 1 die gevormd wordt door niet pathogene (micro-)organismen en loopt op tot pathogeniteitsklasse 4, de groep van hoog pathogene (micro-)organismen. De indeling op basis van pathogeniteitsklasse is van direct belang voor de inschaling van werkzaamheden met ggo's.

In opdracht van de COGEM is er in 2015 een onderzoek uitgevoerd naar bewaarziektes veroorzakende micro-organismen die ook de levende plant aantasten.² Op basis van dit onderzoek heeft de COGEM twintig bacteriën en schimmels als apathogeen aangemerkt en twee schimmels als pathogeen geïdentificeerd.³ Verder kwamen er 13 schimmelsoorten naar voren waarbij er indicaties waren voor pathogeniteit. De COGEM achtte verder onderzoek noodzakelijk om hierover uitsluitsel te kunnen geven.

De COGEM heeft hiertoe een onderzoeksproject uit laten voeren waarmee op basis van een literatuuronderzoek, de pathogeniteit van deze 13 schimmelsoorten voor planten, schimmels, nematoden en arthropoden is bepaald. De pathogeniteit van de schimmels voor hogere diersoorten is in een eerder onderzoek⁴ onderzocht en aan de hand hiervan heeft de COGEM vastgesteld dat geen van de 13 schimmelsoorten pathogeen is voor mens of dier.⁵ Derhalve is de pathogeniteit voor deze groepen in het huidige onderzoeksproject buiten beschouwing gelaten.

Het project is uitgevoerd door dr. ing. S.N. Vink en prof. dr. ir J.D. van Elsas van 'Groningen Institute for Evolutionary Life Sciences' (GELIFES) van de Rijksuniversiteit Groningen. Het onderzoek heeft geresulteerd in een rapport getiteld [*Determining the pathogenicity of 13 fungal species with respect to their required containment measures*](#).

Op basis van het onderzoeksrapport adviseert de COGEM in het onderhavige advies over de pathogeniteitsklasse van deze 13 schimmelsoorten.

2. Inhoud van het onderzoeksrapport in het kort

Aan de hand van een literatuuronderzoek hebben de onderzoekers de pathogeniteit van de eerder geïdentificeerde 13 schimmelsoorten voor planten, schimmels, nematoden en arthropoden bepaald.⁶

De uitvoerders hebben publicaties met aanwijzingen voor pathogeniteit verzameld en zorgvuldig bestudeerd. De artikelen zijn getoetst aan de hand van een aantal criteria. Zo is er onder andere gekeken naar hoe de schimmel werd geïdentificeerd, en of er voldaan werd aan de 'Postulaten van Koch'. De 'Postulaten van Koch' stellen het oorzakelijk verband tussen ziekteverwekker en ziekte vast. Alleen in de gevallen waarbij de pathogeniteitstest op onbeschadigde planten werd uitgevoerd en er ziekte optrad, achtten de uitvoerders dit als overtuigend bewijs voor pathogeniteit.

Onder de 13 schimmelsoorten bevinden zich 10 soorten die volgens de uitvoerders pathogeen zijn voor planten, schimmels, nematoden of arthropoden. De uitvoerders hebben drie schimmelsoorten aangemerkt als niet pathogeen voor deze groepen organismen. Hoewel buiten de reikwijdte van het

onderzoek, hebben de uitvoerders aanwijzingen gevonden dat twee schimmelsoorten mogelijk humaanpathogeen zijn. Verder zijn er indicaties dat één van de schimmels mogelijk pathogeen is voor bepaalde soorten vissen. Ook hebben de uitvoerders de huidige naamgeving van de 13 schimmelsoorten geactualiseerd.

3. Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (ggo)

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

4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft in het verleden verschillende adviezen uitgebracht met overzichten van de indeling in pathogeniteitsklassen van (a)pathogene schimmels.^{5,7,8} Zoals genoemd is in 2011, in opdracht van de COGEM, een onderzoek uitgevoerd naar humaan en dierpathogene schimmels.⁴ De COGEM heeft aan de hand hiervan vastgesteld dat geen van de betreffende 13 schimmelsoorten pathogeen is voor mens en dier en deze soorten ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1.⁵ Uit een later onderzoek naar bewaarziekten veroorzakende micro-organismen die ook de levende plant aantasten, kwamen deze 13 schimmelsoorten naar voren als mogelijke plantpathogenen, maar de COGEM achtte verder onderzoek noodzakelijk om hierover uitsluitel te kunnen geven.³

5. Overweging en advies

De COGEM constateert dat de naamgeving van een aantal schimmelsoorten is gewijzigd en dat deze geactualiseerd moet worden. Ook blijkt uit het rapport dat de schimmelsoort *Aureobasidium pullulans* taxonomisch is gewijzigd en is opgedeeld in *Aureobasidium pullulans sensu stricto*, *Aureobasidium subglaciale*, *Aureobasidium namibiae* en *Aureobasidium melanogenum*.

Op basis van het onderzoeksrapport en aanvullend literatuuronderzoek heeft de COGEM elk van de 13 schimmelsoorten ingedeeld in een pathogeniteitsklasse.

Bij het vaststellen van de pathogeniteit van de betreffende 13 schimmelsoorten voor planten hebben de uitvoerders meegewogen of de pathogeniteitstest op onbeschadigde of beschadigde planten was uitgevoerd. Alleen in de gevallen waarbij de test op onbeschadigde planten werd uitgevoerd en er ziekte optrad, achtten de uitvoerders dit overtuigend bewijs voor pathogeniteit. De COGEM merkt op dat er plantpathogene schimmels bestaan die alleen na verwonding ziekte veroorzaken. Om deze reden kan niet in zijn algemeenheid worden gesteld dat een pathogeniteitstest noodzakelijkerwijs op onbeschadigde planten uitgevoerd dient te zijn om als bewijs voor pathogeniteit te dienen van een bepaalde schimmelsoort. Deze constatering is echter niet van invloed op de pathogeniteitsclassificatie van de betreffende 13 schimmelsoorten.

Het onderzoek heeft aangetoond dat de schimmelsoorten *Aspergillus niger* en *Bjerkandera adusta* apathogeen zijn. De COGEM adviseert deze schimmelsoorten te handhaven in pathogeniteitsklasse 1. Ook de vier nauw verwante *Aureobasidium*-soorten zijn apathogeen en de COGEM adviseert om deze in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Het onderzoek heeft voor 10 van de onderzochte schimmelsoorten aangetoond dat ze pathogeen zijn. De COGEM deelt, op basis van het onderzoeksrapport en nader onderzoek door de COGEM deze soorten in pathogeniteitsklasse 2 in. Een tabel met de hernieuwde classificaties van de 13 schimmelsoorten treft u aan het eind van dit advies. Voor zes soorten die de COGEM nader heeft bestudeerd om de pathogeniteitsklasse vast te kunnen stellen, wordt hieronder een toelichting gegeven.

Gedurende het onderzoek is naar voren gekomen dat de schimmelsoorten *Aureobasidium melanogenum* en *Curvularia spicifera* mogelijk humaanpathogeen zijn. Na bestudering van de in het rapport opgenomen literatuurgegevens heeft de COGEM vastgesteld dat dit gevallen van opportunistische infecties betrof. Omdat dit erop wijst dat deze schimmels opportunistische pathogenen zijn, beschouwt de COGEM deze schimmels als niet pathogeen voor mensen.

De schimmelsoort *P. herbarum* is door de onderzoekers aangemerkt als mogelijk pathogeen voor bepaalde soorten vissen. De COGEM heeft al eerder opgemerkt dat de identificatie van *P. herbarum* in de betreffende literatuur problematisch was, omdat deze alleen op morfologie was gebaseerd.³ Hierdoor is niet met zekerheid vast te stellen welke schimmelsoort de ziekte veroorzaakt. In literatuur waarbij *P. herbarum* wel aan de hand van moleculaire technieken is geïdentificeerd, bleek het te gaan om opportunistische infecties. Om deze reden beschouwt de COGEM *P. herbarum* als apathogeen voor mens en dier.

De uitvoerders zijn van mening dat *Aspergillus niger* niet pathogeen is voor planten, schimmels, nematoden en arthropoden. In de literatuur wordt echter vaak gerefereerd naar *A. niger* als verwekker van zwart rot ('black mould') bij uien.^{9,10,11,13} De schimmel kan als endofyt voorkomen bij zaailingen en jonge uienplanten die geen ziekteverschijnselen vertonen. Hoge temperaturen en vochtigheidsniveaus zorgen voor de ontwikkeling van symptomen bij volwassen planten.¹² Na de oogst worden de uienbollen aangetast (zwarte weefselverkleuring, rotting, opdroging, verschrompeling).^{10,11,13}

Inmiddels is *A. niger* opgedeeld in twee verschillende soorten; *A. niger* en *Aspergillus welwitschiae* (syn. *Aspergillus awamori*).^{14,15} Moleculaire karakterisering van de zwarte Aspergilli soorten op ui wijst er op dat niet *A. niger*, maar de zeer verwante soort *A. welwitschiae* hoogstwaarschijnlijk de veroorzaker is van zwart rot bij ui.^{11,16,17,18}

Op basis van het bovenstaande en de in het rapport opgenomen literatuurgegevens, is de COGEM van oordeel dat *A. niger* apathogeen is voor planten, schimmels, nematoden en arthropoden. *A. welwitschiae* is onder de oude naam *A. awamori* thans geclassificeerd in pathogeniteitsklasse 1.⁵ De COGEM zal in een later stadium de classificatie van deze soort heroverwegen. Hierbij zal bij betrokken worden dat de soortdefinities in het *A. niger* complex mogelijk gewijzigd zijn sinds de taxonomische revisies van deze soort.

De uitvoerders hebben vastgesteld dat *Trichoderma koningii* en *Trichoderma viride* pathogeen zijn voor schimmels en dat *T. viride* ook pathogeen is voor nematoden.

Hoewel volgens de criteria voor de pathogeniteitsclassificatie, micro-organismen op basis van hun pathogeniteit voor 'mens, dier en plant' in pathogeniteitsklassen worden ingedeeld, heeft de COGEM eerder twee schimmelsoorten (*Trichoderma aggressivum* en *Lecanicillium fungicola*) vanwege hun pathogeniteit voor andere schimmels (champignons) in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.¹⁹ De COGEM is van oordeel dat de begrippen 'plant' en 'dier' voor het doel van de risicobeoordeling breed opgevat moeten worden. Zij stelt mogelijke schadelijke effecten op het ontvangende milieu, zoals effecten op ecologische functie, voedselproductie of beschermwaardige soorten centraal bij de indeling in pathogeniteitsklassen.¹⁹ Op grond hiervan adviseert de COGEM *T. koningii* en *T. viride* in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

6. Conclusie

De COGEM concludeert dat 10 van de 13 onderzochte schimmelsoorten pathogeen zijn en adviseert deze schimmels in te delen in pathogeniteitsklasse 2. Verder is de COGEM van oordeel dat twee van

de 13 schimmelsoorten geen ziekteverwekkers zijn. Zij adviseert deze schimmelsoorten te handhaven in pathogeniteitsklasse 1. Eén van de soorten is recent opgesplitst in vier nauw verwante soorten. Gezien deze niet pathogeen zijn adviseert de COGEM om deze in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Een tabel met de hernieuwde classificaties van de 13 schimmelsoorten treft u hieronder aan.

Tabel hernieuwde classificaties van 13 schimmelsoorten

Species	Oude naamgeving	Pathogeniteit	Pathogeniteitsklasse
<i>Sarocladium strictum</i>	<i>Acremonium strictum</i>	plant	2
<i>Aspergillus niger</i> *		-	1
<i>Aureobasidium pullulans</i> sensu stricto	<i>Aureobasidium pullulans</i> sensu lato	-	1
<i>Aureobasidium subglaciale</i>		-	1
<i>Aureobasidium namibiae</i>		-	1
<i>Aureobasidium melanogenum</i>		-	1
<i>Curvularia spicifera</i>	<i>Bipolaris spicifera</i>	plant	2
<i>Bjerkandera adusta</i>		-	1
<i>Cladosporium herbarum</i>		plant	2
<i>Clonostachys rosea</i>		plant, arthropoden	2
<i>Dichotomophthora portulacae</i>		plant	2
<i>Nigrospora sphaerica</i>		plant	2
<i>Phoma herbarum</i>		plant	2
<i>Plectosphaerella cucumerina</i>	<i>Plectosporium tabacinum</i>	plant	2
<i>Trichoderma koningii</i>		schimmel	2
<i>Trichoderma viride</i>		schimmel, nematoden	2

* De soort *A. niger* is inmiddels opgedeeld in twee verschillende soorten; *A. niger* en *A. welwitschiae*.^{14,15}

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezocht: 7 juni 2017)
2. COGEM (2015). Screening of the COGEM lists of non-pathogenic bacteria and fungi for postharvest diseases and plant pathogens. COGEM onderzoeksrapport CGM 2015-06
3. COGEM (2015). Adviserende en signalerende aanbiedingsbrief bij rapport 'Screening of the COGEM lists of non-pathogenic bacteria and fungi for postharvest diseases and plant pathogens'. CGM/151126-01
4. COGEM (2011). Classificatie humaan- en dierpathogene fungi. COGEM onderzoeksrapport CGM 2011-08
5. COGEM (2011). Classificatie apathogene schimmels. COGEM advies CGM/111024-02
6. Vink SN & van Elsas JD (2017). Determining the pathogenicity of 13 fungal species with respect to their required containment measures. COGEM onderzoeksrapport CGM 2017-02
7. COGEM (2011). Classificatie pathogene schimmels. COGEM advies CGM/111024-03
8. COGEM (2014). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/141218-03
9. CABI. *Aspergillus niger* (black mould of onion). <http://www.cabi.org/isc/datasheet/7444> (bezocht: 7 juni 2017)
10. Varga J *et al.* (2008). Chapter 9 – Molecular Diversity of *Aspergillus* and *Penicillium* Species on Fruits and Vegetables. In: *Mycotoxins in Fruits and Vegetables*. Ed. Barkai-Golan R & Paster N. London: Elsevier Inc.
11. Varga J *et al.* (2012). Black Aspergilli and fumonisin contamination in onions purchased in Hungary. *Acta Alimentaria* 41: 414-423
12. Lorbeer JW *et al.* (1998). Nature and Source of Inoculum of *Aspergillus niger* Causing the *Aspergillus* Black Mold Disease of Onions in New York. In: 1997 New York State Vegetable Project Reports Relating to IPM. Geneva, NY: NYS IPM Publication #123. NYAES, pp. 110–114.
13. Uienteelt.nl <http://www.uienteelt.nl/userfiles/file/Sponsorsen/grootenslot/Ziekten-en-plagen-in-uien-versie-DGS-NL-LR.pdf> (bezocht: 9 juni 2017)
14. Perrone G *et al.* (2011). *Aspergillus niger* contains the cryptic phylogenetic species *A. awamori*. *Fungal Biol.* 115: 1138-1150
15. Hong SB *et al.* (2013). *Aspergillus luchuensis*, an industrially important black *Aspergillus* in East Asia. *PLoS One* 8:e63769 doi: 10.1371/journal.pone.0063769
16. Massi FP *et al.* (2014). Tetraplex Pcr Reveals *Aspergillus Welwitschiae* Incidence in Onion Bulbs. *Blucher Food Science Proceedings*. 1 <http://dx.doi.org/10.5151/foodsci-microal-065>
17. Massi FP *et al.* (2016). Prospecting for the incidence of genes involved in ochratoxin and fumonisin biosynthesis in Brazilian strains of *Aspergillus niger* and *Aspergillus welwitschiae*. *Int. J. Microbiol.* 221: 19-28
18. Gherbawy Y *et al.* (2015). Molecular characterization of black *Aspergillus* species from onion and their potential for ochratoxin A and fumonisin B2 production. *Foodborne Pathog. Dis.* 414-423

19. COGEM (2015). Toelichting classificatie schimmelpathogene schimmels. COGEM advies CGM/150513-01