

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

**DATUM** 25 december 2017  
**KENMERK** CGM/171225-01  
**ONDERWERF** Advies pathogeniteitsclassificatie van 8 gistsoorten

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier 'Classificatie verzoek 8 verschillende gisten' (IG 17-253\_2.13-000), ingediend door de Technische Universiteit Delft, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van 8 verschillende gisten; *Torulaspora delbrueckii*, *Vanderwaltozyma polyspora*, *Kazachstania africana*, *Kazachstania bulderi*, *Zygorulaspora mrakii*, *Tetrapisispora phaffii*, *Eremothecium cymbalariae* en *Naumovozyma castellii*. Tevens is zij gevraagd te adviseren over de plaatsing van deze gisten op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'. 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. Activiteiten met deze ggo's kunnen, zonder dat een aanvrager daar een milieurisicobeoordeling voor hoeft aan te leveren, direct na kennisgeving gestart worden.

Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat deze 8 gisten pathogeen zijn voor mens of dier. Met uitzondering van *E. cymbalariae* zijn er voor de gisten ook geen aanwijzingen bekend voor plantpathogeniteit. Zij adviseert daarom om *T. delbrueckii*, *V. polyspora*, *K. africana*, *K. bulderi*, *Z. mrakii*, *T. phaffii* en *N. castellii* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo. Omdat er aanwijzingen zijn dat *E. cymbalariae* pathogeen is voor planten (m.n. voor de hazelaar), adviseert de COGEM om *E. cymbalariae* in te delen in pathogeniteitsklasse 2.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap  
Vorzitter COGEM

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

# Pathogeniteitsclassificatie van acht gistsoorten

## COGEM advies CGM/171225-01

### 1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Technische Universiteit Delft (IG 17-253) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van acht gistsoorten; *Torulaspora delbrueckii*, *Vanderwaltozyma polyspora*, *Kazachstania africana*, *Kazachstania bulderi*, *Zygorulaspora mrakii*, *Tetrapisispora phaffii*, *Eremothecium cymbalariae*, en *Naumovozyma castellii*. Tevens is zij gevraagd te adviseren over de plaatsing van deze gisten op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup> 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 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.

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.

### **3. Taxonomie**

Het merendeel van de tot nu toe beschreven schimmels, valt binnen de fyta van de Ascomycota en Basidiomycota.<sup>2</sup> Veel schimmels kunnen zich zowel geslachtelijk als ongeslachtelijk voortplanten. Omdat de geslachtelijke (teleomorfe) en ongeslachtelijke (anamorfe) stadia er verschillend uitzien, hebben schimmels in het verleden vaak verschillende soortnamen gekregen voor deze stadia. In 2011 is door het 'International Botanical Congress' besloten dat het tot dan toe gebruikelijke duale nomenclatuursysteem van schimmels zou komen te vervallen en dat vanaf januari 2013 een schimmel slechts één naam mag hebben.<sup>3</sup> Momenteel bevindt het nomenclatuursysteem van schimmels zich in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd. Ook is er nog geen duidelijkheid over welke naam de voorkeur heeft. Meestal wordt de teleomorfe naam aangehouden, maar wanneer de anamorfe naam meer bekendheid heeft, wordt daar soms de voorkeur aan gegeven.

De taxonomie van schimmels (inclusief die van gisten) is hierdoor complex en mede door de toenemende informatie over genoomsequenties aan verandering onderhevig. Dit vraagt om een zorgvuldige identificatie van de te gebruiken schimmelsoort.

Gisten behoren tot het rijk van de schimmels (Fungi). Gisten planten zich doorgaans ongeslachtelijk voort en zijn in het giststadium ééncellig. De voortplanting vindt plaats door middel van splijting of knopvorming. Bij knopvorming ('budding') stulpt het cytoplasma van de moedercel uit, en vormt het een knop die verder uitgroeit en uiteindelijk afsnoert. Bepaalde gistsoorten vormen daarnaast ook meercellige schimmeldraden (hyfen). Hieruit kunnen arthroconidia of blastoconidia ontstaan wanneer deze zich in individuele cellen opsplitsen. Sommige gistsoorten kunnen zich niet alleen ongeslachtelijk, maar onder bepaalde omstandigheden ook geslachtelijk via asco- of basidiosporen voortplanten.

De acht gistsoorten in de onderhavige aanvraag zijn ascomyceten en behoren allen tot de *Saccharomyces* sensu lato groep van het ‘*Saccharomyces* soortencomplex’ (subfylum Saccharomycotina, fylum Ascomycota). Zeven van de in dit advies behandelde gistsoorten hadden voorheen een andere naam. Gisten werden vroeger op basis van morfologie (van vegetatieve en sexuele stadia) en fysiologische kenmerken (fermentatie- en groeitesten) in genera ingedeeld. Sinds het beschikbaar komen van sequentiegegevens blijkt dat overeenkomsten in fenotypische kenmerken geen goede weerspiegeling zijn van de genetische verwantschap van gisten. Daarom is de taxonomie van gistsoorten sterk aan verandering onderhevig. In 2003 is de classificatie van de soorten binnen het ‘*Saccharomyces* complex’ herzien. Binnen dit soortencomplex blijken 14 groepen (genera) onderscheiden te kunnen worden. Zeven van de gistsoorten die in dit advies worden behandeld, namelijk *K. africana*, *K. bulderi*, *N. castellii*, *T. phaffii*, *V. polyspora*, *Z. mrakii* en *T. delbrueckii*, zijn nauw aan elkaar verwant en behoren tot de Saccharomycetaceae.<sup>4</sup> Er is discussie over de familie waartoe *E. cymbalariae* en andere *Eremothecium* soorten behoren. Sommigen plaatsen dit genus in een aparte familie, de Eremotheciaceae,<sup>4</sup> terwijl anderen van mening zijn dat ook dit genus tot de Saccharomycetaceae behoort.<sup>5</sup>

### 3. Beschrijving van de organismen

#### 2.1 *Torulaspora delbrueckii*

*Torulaspora delbrueckii* (voorheen bekend als *Saccharomyces delbrueckii*) is een veelvoorkomende gist in brooddeeg.<sup>6</sup> Er zijn ook soorten van het genus *Torulaspora* die geïsoleerd zijn uit de darmen van kevers die zich voeden met rottend hout.<sup>7</sup> Het volledige genoom van *T. delbrueckii* is in kaart gebracht.<sup>8</sup> De soort heeft een genoom van ongeveer 11,2 Mbp verspreid over acht chromosomen.<sup>9</sup>

*T. delbrueckii* (anamorf: *Candida colliculosa*) is nauw verwant aan *Saccharomyces cerevisiae*. In tegenstelling tot *S. cerevisiae* hebben *T. delbrueckii* stammen een sterke resistentie tegen osmotische en vries-dooi stressoren.<sup>6</sup> Hierdoor kunnen ze gebruikt worden in fermentatieprocessen met hoge suikergehaltes en voor fermentatie van bevroren deeg. Ook is deze gistsoort mild fermenterend en geschikt voor de productie van bier en wijn.<sup>9</sup> *T. delbrueckii* produceert relatief weinig ethanol, maar bij de productie komen weinig ongewenste componenten zoals vluchtige zuren, fenolen en glycerol vrij, wat een gunstige uitoefening heeft op de smaak van de alcoholische drank.<sup>9,10</sup>

#### 2.2 *Vanderwaltozyma polyspora*

*Vanderwaltozyma polyspora* (voorheen bekend als *Kluyveromyces polysporus*) is oorspronkelijk geïsoleerd uit een bodem in Zuid-Afrika. Het volledige genoom van *V. polyspora* is gesequenced.<sup>11</sup> *V. polyspora* heeft de bijzondere eigenschap dat deze gist een tweede glycyl-tRNA synthetase gen<sup>12,13</sup> (ook aanwezig in *S. cerevisiae*) en alanyl-tRNA synthetase gen<sup>14</sup> bevat. Deze aminoacyl-tRNA synthetase genen zijn betrokken bij de eiwitsynthese. Zoogdieren bevatten ook twee aminoacyl-tRNA synthetase genen, en mutaties in deze genen zijn gerelateerd aan verschillende aandoeningen in mensen. Aanwezigheid van een tweede aminoacyl-tRNA synthetase gen maakt deze gisten daarom mogelijk ook interessant voor het biomedisch onderzoek.

### 2.3 *Kazachstania africana* en *Kazachstania bulderi*

Sommige soorten behorende tot het genus *Kazachstania* zijn commensalen in het darmstelsel van warmbloedige dieren en hebben een lage virulentie.<sup>15,16</sup> Ook zijn verschillende soorten van het genus *Kazachstania* geïsoleerd uit de darmen van kevers die zich voeden met rottend hout.<sup>7</sup>

*Kazachstania africana* (voorheen bekend als *Kluyveromyces africanus*) is echter geïsoleerd uit een bodem in Afrika. Ook van *K. africana* is het volledige genoom bekend.<sup>17</sup> Veel gisten in de familie Saccharomycetaceae zijn in staat om te wisselen van ‘mating-type’, waardoor een enkele haploïde gistcel toch in staat is diploïde nakomelingen te produceren. Om dit te bewerkstelligen vindt er budding plaats, en verandert de moedercel van ‘mating-type’, zodat deze samen met de dochtercel een homozygote diploïde gistcel kan produceren die door middel van mitose kan repliceren. Hier zijn verschillende loci bij betrokken, waaronder het ‘mating-type’ (MAT) locus, en het HML of HMR locus. *K. africana* is waarschijnlijk niet in staat om van ‘mating-type’ te wisselen door reorganisatie van MAT loci en afwezigheid van de HML en HMR loci.<sup>18</sup>

*Kazachstania bulderi* (voorheen bekend als *Saccharomyces bulderi*) is geïsoleerd uit kuilvoer in Nederland. *K. bulderi* heeft als bijzondere eigenschap dat het  $\delta$ -gluconolactone onder anaerobe condities kan fermenteren naar ethanol.<sup>19</sup>

### 2.4 *Zygorulaspota mrakii*

*Zygorulaspota mrakii* (voorheen bekend als *Zygosaccharomyces mrakii*) is de typesoort van het genus *Zygorulaspota*.<sup>4</sup> De gist is oorspronkelijk geïsoleerd uit kuilvoer, maar is later ook geïsoleerd uit fermenterende olijven.<sup>20</sup> *Z. mrakii* werd eerder tot het genus *Zygosaccharomyces* gerekend. In tegenstelling tot soorten uit het genus *Zygosaccharomyces* heeft *Z. mrakii* geen voorkeur voor fructose bij aanwezigheid van glucose.<sup>21</sup>

### 2.5 *Tetrapisispora phaffii*

*Tetrapisispora phaffii* (voorheen bekend als *Fabospora phaffii* en *Kluyveromyces phaffii*) is geïsoleerd uit een bodem in Zuid-Afrika. *T. phaffii* was oorspronkelijk onderverdeeld in het genus *Fabospora* op basis van de morfologie van de ascospore, maar is in 1970 ingedeeld in het genus *Kluyveromyces*. In 1999 is de taxonomische indeling van de gist opnieuw gewijzigd en is de gist op basis van fylogenetische analyses met 18S rRNA gensequenties onderverdeeld in het genus *Tetrapisispora*.<sup>22</sup> De volledige genoomsequentie van *T. phaffii* is bekend.<sup>23</sup>

Naast *V. polyspora* bevat ook *T. phaffii* twee verschillende alaRS genen.<sup>14</sup> Daarnaast scheidt *T. phaffii* een zogenaamd ‘killer toxine’ (Kpkt, een glycoproteïne van 33 kDa) uit dat werkzaam is tegen bederf veroorzakende gisten doordat het de celwand van gevoelige gisten (zoals gisten uit de genera *Hanseniaspora* en *Kloeckera*) aantast. Kpkt is alleen werkzaam tegen de celwand en tast het plasmamembraan niet aan.<sup>24</sup> Door deze eigenschap is deze gist een aantrekkelijk organisme om te bestuderen voor de wijnindustrie.<sup>25</sup>

### 2.6 *Eremothecium cymbalariae*

*Eremothecium cymbalariae* is in 1888 voor het eerst beschreven<sup>26</sup> en is de typesoort van het genus *Eremothecium*.<sup>27</sup> *E. cymbalariae* is in staat om suiker om te zetten naar ethylacetaat<sup>28</sup> en het genoom

van *E. cymbalariae* is volledig in kaart gebracht.<sup>29,30</sup> *E. cymbalariae* behoort, net als de overige soorten in dit advies, tot het ‘*Saccharomyces* soortencomplex’, en is een filamenteuze ascomycet.<sup>31,32</sup>

*E. cymbalariae* veroorzaakt bij de Hazelaar (*Corylus* spp.) droogrot waardoor de hazelnoten verschrompelen.<sup>33</sup> Verscheidene *E. cymbalariae* stammen zijn uit planten geïsoleerd. Het in 1888 beschreven isolaat was afkomstig van Muurleeuwenbek. Later is de soort verschillende malen geïsoleerd uit de rijpe vruchten van een schermbloemige (*Cachrys laevigata*, syn. *Prangos trifida*).<sup>26</sup> Beschreven is dat *E. cymbalariae* waarschijnlijk Muurleeuwenbek, *P. trifida*, katoen, tomaat en citrusvruchten aan kan tasten.<sup>31</sup> De soort wordt overgedragen door insecten die tot de Hemiptera (wantsen, bladluizen en cicaden) behoren.<sup>31</sup> Ook het type-isolaat van deze soort is geïsoleerd uit een insect, namelijk de ‘pistachio green stink bug’ (*Brachynema germari*).<sup>27</sup>

### 2.7 *Naumovozyma castellii*

*Naumovozyma castellii* (voorheen bekend als *Saccharomyces castellii* en *Naumovia castellii*<sup>34</sup>) is geïsoleerd uit een bodem in Finland. Deze gist komt wijdverspreid voor in de natuur en is later aangetroffen in fermenterende komkommers in Amerika, karnemelk en maïskuilvoer in Nederland, een bodem in Zuid-Afrika en in de darminhoud (caecum) van bavianen in Mozambique.<sup>34</sup> Ook van deze gist is het volledige genoom gesequenced.<sup>35</sup> *N. castellii* heeft zowel een haploïde als een diploïde vorm. Haploïde *N. castellii* cellen kunnen fuseren met haploïde *S. cerevisiae* cellen waardoor een hybride ontstaat.<sup>34</sup> De gist kan glucose en galactose als koolstofbron gebruiken, maar is niet in staat om andere suikers, zoals sucrose, maltose, lactose en raffinose te fermenteren. *N. castelli* kan, net als *S. cerevisiae*, glucose zowel onder zuurstofarme als zuurstofrijke condities metaboliseren naar ethanol.<sup>34</sup>

## 3. Classificaties door andere instanties

De 8 gistsoorten zijn door het Westerdijk Instituut als BSL1 organismen geclassificeerd.<sup>36</sup> De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC)<sup>37</sup> heeft werkzaamheden met *T. delbrueckii*, *V. polyspora*, *K. africana*, *K. bulderi*, *Z. mrakii*, *T. phaffii* en *N. castellii* ingeschaald op het laagste veiligheidsniveau BSL1. Deze classificatie van de ATCC is gebaseerd op pathogeniteit voor de mens. De Zwitserse risicobeoordelingsinstantie ‘Federal Office for the Environment’ (FOEN) heeft geen van de gisten geclassificeerd.<sup>38</sup> De Duitse risicobeoordelingsinstantie ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAuA) heeft alleen *T. delbrueckii* geclassificeerd, namelijk als apathogeen.<sup>39</sup> De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

## 4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft in 2014 een lijst met de pathogeniteit van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels geactualiseerd en gepubliceerd.<sup>40</sup> Voor elke gistsoort is in onderstaande paragrafen beschreven welke soorten of gerelateerde soorten door de COGEM geclassificeerd zijn.

### 4.1 *Torulaspota delbrueckii*

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *T. delbrueckii* of over andere soorten die tot dit genus behoren. *T. delbrueckii* werd eerder tot het genus *Saccharomyces* gerekend. Verschillende *Saccharomyces* soorten (*S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. eubayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. mikatae*, *S.*

*paradoxus*, *S. pastorianus*, *S. uvarum* en *S. kluyveri* = *Lachancea kluyveri*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

De anamorfe naam van *T. delbrueckii* is *Candida colliculosa*. De COGEM heeft over verschillende soorten geadviseerd waarvan de anamorfe vorm tot het genus *Candida* wordt gerekend. Sommige van deze soorten zijn als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd, terwijl andere soorten als pathogeen (pathogeniteitsklasse 2) zijn geclassificeerd.

#### **4.2 *Vanderwaltozyma polyspora***

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *V. polyspora* of over andere soorten die tot dit genus behoren. *V. polyspora* werd eerder tot het genus *Kluyveromyces* gerekend. *Kluyveromyces marxianus* (anamorf *Candida kefyr*) en *Kluyveromyces lactis* (anamorf *Candida sphaerica*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

#### **4.3 *Kazachstania africana* en *Kazachstania bulderi***

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *K. africana* en *K. bulderi*. Zij heeft wel geadviseerd over *Kazachstania telluris* (anamorf *Candida pintolopesii*) en deze als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

*K. africana* werd eerder tot het genus *Kluyveromyces* gerekend. *Kluyveromyces marxianus* (anamorf *Candida kefyr*) en *Kluyveromyces lactis* (anamorf *Candida sphaerica*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

*K. bulderi* werd eerder tot het genus *Saccharomyces* gerekend. Verschillende *Saccharomyces* soorten (*S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. eubayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. mikatae*, *S. paradoxus*, *S. pastorianus*, *S. uvarum* en *S. kluyveri* = *Lachancea kluyveri*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

#### **4.4 *Zygotrulaspora mrakii***

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *Z. mrakii* of over andere soorten die tot dit genus behoren. *Zygosaccharomyces bailii* en *Zygosaccharomyces rouxii* zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

#### **4.5 *Tetrapisispora phaffii***

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *T. phaffii* of over andere soorten die tot dit genus behoren. *T. phaffii* werd eerder tot het genus *Fabospora* en tot het genus *Kluyveromyces* gerekend. De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over soorten die tot de *Fabospora* behoren. *Kluyveromyces marxianus* (anamorf *Candida kefyr*) en *Kluyveromyces lactis* (anamorf *Candida sphaerica*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

#### **4.6 *Eremothecium cymbalariae***

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *E. cymbalariae* of over andere soorten die tot dit genus behoren.



#### 4.7 *Naumovozyma castellii*

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *N. castellii* of over andere soorten die tot dit genus behoren. *N. castellii* werd eerder tot het genus *Saccharomyces* gerekend en tot het genus *Nauvomia*, maar de naam van dit genus is in 2011 gewijzigd naar *Naumovozyma*.<sup>34</sup> Verschillende *Saccharomyces* soorten (*S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. eubayanus*, *S. kudriavzevii*, *S. mikatae*, *S. paradoxus*, *S. pastorianus*, *S. uvarum* en *S. kluyveri* = *Lachancea kluyveri*) zijn door de COGEM als apathogeen (pathogeniteitsklasse 1) geclassificeerd.

### 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 micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voorhanden.

Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *T. delbrueckii*, *V. polyspora*, *K. africana*, *K. bulderi*, *Z. mrakii*, *T. phaffii*, *E. cymbalariae* en *N. castellii* pathogeen zijn voor mens of dier. Ook zijn er bij de COGEM geen publicaties bekend waarin melding wordt gemaakt dat de gisten over toxische eigenschappen beschikken. In de 'Atlas of Clinical Fungi', het naslagwerk met alle klinisch relevante schimmels, staan geen van de gisten vermeld als pathogene gisten.<sup>41</sup> *T. delbrueckii* (anamorf *C. colliculosa*) is in enkele gevallen aangetroffen in klinische monsters, zoals het bloed van een patiënt met ernstig onderliggend ziektebeeld<sup>42</sup>, bij gevallen van candidiasis of vaginitis bij vrouwen<sup>43</sup>, of in feces van patiënten met allergieën of spijsverteringsstoornissen<sup>44</sup>. In deze gevallen betreft het echter opportunistische infecties in patiënten met onderliggende ziektebeelden.

Er zijn geen aanwijzingen dat *T. delbrueckii*, *V. polyspora*, *K. africana*, *K. bulderi*, *Z. mrakii*, *T. phaffii*, en *N. castellii* pathogeen zijn voor planten.

Er zijn verscheidene soorten behorende tot het genus *Eremothecium* aangemerkt als plantpathogeen, zoals *E. ashbyi*, *E. gossypii*, *E. coryli* en *E. sinicaudum*.<sup>45,46,47,48,49,50</sup> *E. cymbalariae* is geïsoleerd uit verschillende plantensoorten (Muurleeuwenbek, *P. trifida*, katoen, tomaat en citrus)<sup>31</sup> en veroorzaakt droogrot op Hazelaar wat leidt tot verschroepelde hazelnoten.<sup>33</sup>

Het voorgaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat dat *T. delbrueckii*, *V. polyspora*, *K. africana*, *K. bulderi*, *Z. mrakii*, *T. phaffii* en *N. castellii* niet pathogeen zijn voor mens, dier en plant. Zij adviseert daarom deze gisten in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens adviseert de COGEM om deze 7 gisten op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

De COGEM is van mening dat er aanwijzingen zijn dat *E. cymbalariae* pathogeen is voor planten (m.n. voor Hazelaar) en adviseert om *E. cymbalariae* in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

## 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. James TY *et al.* (2006). Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny. *Nature* 443: 818-822
3. Hawksworth DL (2011). A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names. *IMA Fungus* 2:155-162
4. Kurtzman CP (2003). Phylogenetic circumscription of *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* and other members of the *Saccharomycetaceae*, and the proposal of the new genera *Lachancea*, *Nakaseomyces*, *Naumovia*, *Vanderwaltozyma* and *Zygorulaspota*. *FEMS Yeast Res.* 4: 233-245
5. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute – Yeasts 2011 – *Eremothecium* [www.westerdijkinstitute.nl/Collections/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000089&Rec=583&Fields=All](http://www.westerdijkinstitute.nl/Collections/BioloMICS.aspx?TableKey=14682616000000089&Rec=583&Fields=All) (bezocht: 14 december 2017)
6. Alves-Araújo C *et al.* (2004). Cloning and characterization of the MAL11 gene encoding a high-affinity maltose transporter from *Torulaspora delbrueckii*. *FEMS Yeast Res.* 4: 467-476
7. Urbina H *et al.* (2013). Gut-inhabiting yeasts from the gut of Australian passalid beetles. *Phytopathology* 103: 150-150
8. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/12254> (bezocht: 14 december 2017)
9. Varela C & Borneman AR (2017). Yeasts found in vineyards and wineries. *Yeast* 34: 111–128
10. Renault P *et al.* (2009). Genetic characterization and phenotypic variability in *Torulaspora delbrueckii* species: Potential applications in the wine industry. *Int. J. Food Microbiol.* 134: 201-210
11. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=vanderwaltozyma> (bezocht: 14 december 2017)
12. Chen SJ *et al.* (2012). *Saccharomyces cerevisiae* possesses a stress-inducible glycyl-tRNA synthetase gene. *PLoS One.* 7: e33363
13. Chien CI *et al.* (2015). *Vanderwaltozyma polyspora* possesses two glycyl-tRNA synthetase genes: one constitutive and one inducible. *Fungal Genet Biol.* 2015 Mar;76:47-56
14. Chang C *et al.* (2015). Divergent Alanine-tRNA synthetase genes of *Vanderwaltozyma polyspora* descended from a common ancestor through whole-genome duplication followed by asymmetric evolution. *Mol. Cell Biol.* 35: 2242-2253
15. Kurtzman CP *et al.* (2005). Multigene phylogenetic analysis of pathogenic candida species in the *Kazachstania* (*Arxiozyma*) *telluris* complex and description of their ascospore states as *Kazachstania bovina* sp. nov., *K. heterogenica* sp. nov., *K. pintolopesii* sp. nov., and *K. slooffiae* sp. nov. *J. Clin. Microbiol.* 43: 101-111
16. The Atlas of Clinical Fungi. [http://atlas.clinicalfungi.org/AtlasOnline//protected/index.xhtml?07\\_arxioztellurvanderwalt.html](http://atlas.clinicalfungi.org/AtlasOnline//protected/index.xhtml?07_arxioztellurvanderwalt.html) (bezocht: 18 december 2017)
17. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=kazachstania> (bezocht: 14 december 2017)

18. Gordon JL *et al.* (2011). Evolutionary erosion of yeast sex chromosomes by mating-type switching accidents. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 20024-20029
19. Van Dijken JP *et al.* (2002). Novel pathway for alcoholic fermentation of  $\delta$ -gluconolactone in the yeast *Saccharomyces bulderi*. *J. Bacteriol.* 184: 672-678.
20. Porru C *et al.* (2018). Genotyping, identification and multifunctional features of yeasts associated to Bosana naturally black table olive fermentations. *Food Microbiol.* 69: 33-42
21. Cabral S *et al.* (2015). Occurrence of *FFZ* genes in yeasts and correlation with fructophilic behavior. *Microbiology* 161: 2008-2018
22. Ueda-Nishimura K & Mikata K (1999). A new yeast genus, *Tetrapisispora* gen. nov.: *Tetrapisispora iriomotensis* sp. nov., *Tetrapisispora nanseiensis* sp. nov. and *Tetrapisispora arboricola* sp. nov., from the Nansei Islands, and reclassification of *Kluyveromyces phaffii* (van der Walt) van der Walt as *Tetrapisispora phaffii* comb. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49 Pt 4: 1915-1924
23. The National Center for Biotechnology Information (NCBI). Genome *Eremothecium cymbalariae* [www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/12185](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/12185) (bezoekt: 14 december 2017)
24. Comitini F *et al.* (2009). *Tetrapisispora phaffii* killer toxin is a highly specific  $\beta$ -glucanase that disrupts the integrity of the yeast cell wall. *Microb. Cell Fact.* 8: 55
25. Oro L *et al.* (2014). TpBGL2 codes for a *Tetrapisispora phaffii* killer toxin active against wine spoilage yeasts. *FEMS Yeast Res.* 14: 464-471
26. Arnaud MG (1913). Sur le genre *Eremothecium* Borzi. *Bulletin de la Société Mycologique de France.* Tome XXIX 4e fascicule
27. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. CBS strain database CBS 270.75 [www.westerdijkinstitute.nl/Collections/Biolomics.aspx?Table=CBS%20strain%20database](http://www.westerdijkinstitute.nl/Collections/Biolomics.aspx?Table=CBS%20strain%20database) (bezoekt: 18 december 2017)
28. Kruis AJ *et al.* (2017). Ethyl acetate production by the elusive alcohol acetyltransferase from yeast. *Metab Eng.* 41: 92-101
29. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) [www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/11437](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/11437) (bezoekt: 14 december 2017)
30. Wendland J & Walther A (2011). Genome evolution in the *Eremothecium* clade of the *Saccharomyces* complex revealed by comparative genomics. *G3* 2011(1): 539-548
31. Batra LR (1973). Nematosporeaceae (Hemiascomycetidae): Taxonomy, pathogenicity, distribution and vector relations. Technical Bulletin No. 1469. Agricultural Research Service. USDA
32. Kurtzman CP & Robnett CJ (2003). Phylogenetic relationships among yeasts of the 'Saccharomyces complex' determined from multigene sequence analyses. *FEMS Yeast Research* 3: 417-432
33. Bobev SG *et al.* (2017). First report of hazelnut kernel rot caused by *Eremothecium cymbalariae* in Bulgaria. *Plant Disease* accepted for publication <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-17-1507-PDN> (bezoekt: 18 december 2017)
34. Karademir Andersson A & Cohn M (2017). *Naumovozyma castellii*: an alternative model for budding yeast molecular biology. *Yeast.* 34: 95-109
35. The National Center for Biotechnology Information (NCBI) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=saccharomyces+castellii> (bezoekt: 14 december 2017)

36. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. <http://www.westerdijkinstituut.nl/> (bezocht: 12 december 2017)
37. American Type Culture Collection. <https://www.lgcstandards-atcc.org/>
38. Federal Office for the Environment (FOEN).  
<https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezocht: 21 december 2017)
39. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). TRBA 460 "Einstufung von Pilzen in Risikogruppen" (2016). [https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-460.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=2](https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-460.pdf?__blob=publicationFile&v=2) (bezocht: 21 december 2017)
40. COGEM (2014). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/141218-03
41. Hoog de GS *et al.* (2014). Atlas of Clinical Fungi, Atlas version 4.1.4, 4e editie
42. Kaygusuz I *et al.* (2003). An unusual native tricuspid valve endocarditis caused by *Candida colliculosa*. Clin. Microbiol. Infect. 9: 319-322
43. Shirkhani S *et al.* (2016). Phospholipase and proteinase activities of *Candida* spp. isolates from vulvovaginitis in Iran. J. Mycol. Med. 26: 255-260
44. Biasoli MS *et al.* (2002). Adherence of *Candida* strains isolated from the human gastrointestinal tract. Mycoses. 45: 465-469
45. Schwartz HF and Harveson RM (last update 8/31/15). Diseases of Bean (*Phaseolus vulgaris* L.). <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Bean.aspx> (bezocht: 14 december 2017)
46. Hartman GL (last update: 6/25/15) Diseases of Soybean (*Glycine max* [L.] Merr.). [http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Documents/Soybean\\_CommonNames.pdf](http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Documents/Soybean_CommonNames.pdf) (bezocht: 14 december 2017)
47. Timmer LW *et al.* (last updated 11/1/2015). Diseases of Citrus (*Citrus* spp.) <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Citrus.aspx> (bezocht: 14 december 2017)
48. Miyao GM (2000). Outbreak of *Eremothecium coryli* Fruit Rot of Tomato in California. The American Phytopathological Society 84: 594.3 - 594.3.  
[http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2000/May/Pages/84\\_5\\_594.3.aspx](http://www.apsnet.org/publications/plantdisease/2000/May/Pages/84_5_594.3.aspx) (bezocht: 14 december 2017)
49. ScienceDirect - Learn more about *Eremothecium* - Volume 2 - Kurtzman CP & De Hoog GS in The Yeasts (Fifth Edition), 2011 [www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/eremothecium](http://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/eremothecium) (bezocht: 18 december 2017)
50. EPPO Global Database. *Eremothecium gossypii* (NMATGO). <https://gd.eppo.int/taxon/NMATGO> (bezocht: 18 december 2017)