

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

DATUM 19 oktober 2018
KENMERK CGM/181019-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Talaromyces verruculosus*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van Dutch DNA Biotech B.V. om de schimmel *Penicillium verruculosum* op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo te plaatsen (IG 18-178_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:


De COGEM is gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Talaromyces verruculosus* (syn. *Penicillium verruculosum*) en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'.

T. verruculosus komt voor in de bodem. De schimmel produceert verscheidene enzymen die interessant zijn voor industriële toepassingen, waaronder cellulases en antimicrobiële moleculen. Er zijn bij de COGEM geen aanwijzingen bekend dat de schimmel pathogeen is voor mens, dier of plant. Zij adviseert daarom *T. verruculosus* 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. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Pathogeniteitsclassificatie van de schimmel

***Talaromyces verruculosus* (syn. *Penicillium verruculosum*)**

COGEM advies CGM/181019-02

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van Dutch DNA Biotech B. V. (IG 18-178) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmel *Talaromyces verruculosus* (syn. *Penicillium verruculosum*) en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (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 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 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. Taxonomie schimmels

Schimmels vormen het rijk der Fungi. Het merendeel van de beschreven schimmels valt binnen de fyta Ascomycota en Basidiomycota.² Omdat er veel schimmels zijn die zowel een geslachtelijk (teleomorf) als een ongeslachtelijk (anamorf) stadium hebben en zij er in deze stadia verschillend uitzien, hebben verscheidene schimmels in het verleden meerdere soortnamen gekregen. 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 één schimmel slechts één naam mag hebben.³ Momenteel bevindt het nomenclatuursysteem van schimmels zich in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

De taxonomie van schimmels is complex. Mede door de toenemende informatie over genomesequenties is de taxonomie aan verandering onderhevig. Dit vraagt om een zorgvuldige identificatie van de te gebruiken schimmelsoort.

4. *Talaromyces verruculosus* (syn. *Penicillium verruculosum*)

Penicillium verruculosum is voor het eerst beschreven in 1913. In 2011 is de soort in het geslacht *Talaromyces* geplaatst onder de nieuwe naam *Talaromyces verruculosus*.⁴ Voor de teleomorfe verschijningsvorm van verschillende soorten uit het genus *Penicillium* (anamorfe vorm) is in 1955 het nieuwe genus *Talaromyces* in het leven geroepen.⁵ Bepaalde soorten die voorheen tot het genus *Penicillium* behoorden, waaronder *T. verruculosus*, worden nu in het genus *Talaromyces* ingedeeld.⁴ *T. verruculosus* behoort tot het fylum Ascomycota, de klasse van de *Eurotiomyceten* en de familie van de *Trichocomaceae*. Het genoom van de *T. verruculosus* stam TS63-9 is gesequenced en is ~37 Mbp groot.⁶ *T. verruculosus* is een filamenteuze saprofyt die voorkomt in de bodem.¹¹ Het is een meso- en acidofiele schimmel die verscheidene enzymen produceert die interessant zijn voor industriële toepassingen, waaronder cellulases en anti-microbiële extrolieten.⁶

De COGEM wijst er op dat *T. verruculosus* (syn. *P. verruculosum*) niet verward moet worden met de mycotoxine-producerende soort *Penicillium verrucosum*.^{7,8,9} Anders dan *P. verrucosum* is *T. verruculosus* in de recente literatuur slechts enkele malen in verband gebracht met mogelijke mycotoxine-productie. Een studie van Alvindia *et al.* (2016) heeft *T. verruculosus*, net als een aantal bekende ochratoxine A (OTA-) producerende *Penicillium* en *Aspergillus* soorten, aangetroffen op koffiebonen in de Filipijnen. OTA is een mycotoxine en is door de 'International Agency for Research on Cancer' (IARC) aangemerkt als mogelijk carcinogeen.¹⁰ Van *T. verruculosus* bleek 60% van de isolaten in staat om *in vitro* maximaal 12 ng/g OTA te produceren.¹¹ Dit zijn zeer kleine hoeveelheden in vergelijking met de hoeveelheden die isolaten van bekende OTA-producerende *Aspergillus* soorten

aanmaken. Zij produceren onder dezelfde omstandigheden gemiddeld 18076 ng/g OTA. In het geval van *Aspergillus westerdijkiae* liep dit zelfs op tot 36561 ng/g OTA.¹¹ In tegenstelling tot *P. verrucosum* staat *T. verruculosus* dan ook niet vermeld in overzichten van soorten die mycotoxines produceren.^{9,12}

Verder is er in de literatuur slechts één geval gerapporteerd waarbij *T. verruculosus* met infectie is geassocieerd, dit betrof een jongvolwassen Duitse herdershond met osteomyelitis. Deze hond was waarschijnlijk immuungecompromitteerd.¹³

5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over *T. verruculosus*. Wel heeft de COGEM een aantal *Talaromyces* en *Penicillium* soorten in pathogeniteitsklasse 1 ingedeeld, waaronder de (myco)toxineproducerende soorten *Talaromyces columbinus*, *Talaromyces macrosporus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Penicillium brasilianum*, *Penicillium chrysogenum* en *Penicillium roqueforti*.^{14,15,16,17,18} Als enige *Talaromyces* soort heeft de COGEM de soort *Talaromyces marneffe* (syn: *Penicillium marneffe*) ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, met daarbij de opmerking dat deze schimmel allergische reacties bij de mens veroorzaakt.¹⁸

6. Classificaties door andere beoordelende instanties

De ‘American Type Culture Collection’ (ATCC) en het ‘Westerdijk Fungal Biodiversity Institute’ hebben verschillende *T. verruculosus* isolaten ingedeeld op BSL-1.^{19,20} De ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft *T. verruculosus* ingedeeld in risicogroep 1.²¹

De inschaling door deze 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 micro-organismen weinig literatuur over apathogeniteit voor handen.

T. verruculosus komt voor in de bodem. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er geen publicaties waarin melding wordt gemaakt dat *T. verruculosus* pathogeen is voor gezonde mensen, dieren of planten. Er is in de literatuur slechts één geval gerapporteerd waarbij *T. verruculosus* met een infectie was geassocieerd, dit betrof een waarschijnlijk immuungecompromitteerde Duitse herdershond met osteomyelitis.¹³ Ook in de ‘Atlas of Clinical Fungi’, het naslagwerk met alle klinisch relevante schimmels, staat *T. verruculosus* ingedeeld in de laagste risicogroep (RG-1, BSL-1).²² Tevens staat *T. verruculosus* niet vermeld in ‘online databases’ met informatie over schimmelsoorten die ziekten bij planten veroorzaken.^{23,24,25,26,27,28} Op basis van de gepubliceerde genomsequentiegegevens, lijkt *T. verruculosus* geen bekende virulentiefactoren en toxinegenen te bezitten.

Alles in overweging nemende adviseert de COGEM *T. verruculosus* (syn. *P. verruculosum*) in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *T. verruculosus* in aanmerking komt voor plaatsing op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-10-01> (bezoekt: 8 oktober 2018)
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. Samson RA *et al.* (2011). Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Stud. Mycol.* 70: 159-183
5. Benjamin CR (1955). Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologia*, 47: 669–687
6. Hu L *et al.* (2016). Draft genome sequence of *Talaromyces verruculosus* ("*Penicillium verruculosum*") strain TS63-9, a fungus with great potential for industrial production of polysaccharide-degrading enzymes. *J. Biotechnol.* 219: 5-6
7. Mycobank. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. *Penicillium verruculosum*. <http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&Rec=19515&Fields=All> (bezoekt: 12 oktober 2018)
8. Mycobank. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. *Penicillium verrucosum*. <http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank&Rec=37124&Fields=All> (bezoekt: 12 oktober 2018)
9. International Agency for Research on Cancer (IARC) (2012). Fungi producing significant mycotoxins. *IARC Sci. Publ.* 1-30
10. International Agency for Research on Cancer (IARC). Agents classified by the IARC monographs. International Agency for Research on Cancer. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php> (bezoekt: 10 oktober 2018)
11. Alvindia DG & de Guzman MF (2016). Survey of Philippine coffee beans for the presence of ochratoxigenic fungi. *Mycotoxin Res.* 32: 61-67
12. Wang Y *et al.* (2016). Ochratoxin A Producing Fungi, Biosynthetic Pathway and Regulatory Mechanisms. *Toxins* (Basel). 8
13. Wigney D *et al.* (1990) Osteomyelitis associated with *Penicillium verruculosum* in a German shepherd dog. *J. Small Anim. Pract.* 31: 449-452
14. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Talaromyces columbinus*. COGEM advies CGM/170216-02
15. COGEM (2006). Inschaling en inactivatie van de bodemschimmel *Talaromyces macrosporus*. COGEM advies CGM/060208-01
16. COGEM (2015). Classificatie en inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde

Penicillium brasilianum. COGEM advies CGM/150108-01

17. COGEM (2017). Pathogeniteitsclassificatie van een viertal schimmelsoorten. COGEM advies CGM/170316-01
18. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/180430-01
19. American Type Culture Collection (ATCC). *Penicillium verruculosum*. <https://www.atcc.org/search#q=Penicillium%20verruculosum&sort=relevancy> (bezocht: 8 oktober 2018)
20. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. *Talaromyces verruculosus* <http://www.westerdijk.nl/Collections/Biolomics.aspx?Table=CBS%20strain%20database> (bezocht: 8 oktober 2018)
21. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA). *Penicillium verruculosum* https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-460.pdf?__blob=publicationFile&v=2. (bezocht: 8 oktober 2018)
22. The Atlas of Clinical Fungi. Version 4.1.4 <http://atlas.clinicalfungi.org/AtlasOnline/> (bezocht: 10 oktober 2018)
23. USDA ARS Fungal database. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (bezocht: 9 oktober 2018)
24. American Phytopathological Society (APS). www.apsnet.org/SearchCenter/Pages/results.aspx (bezocht: 9 oktober 2018)
25. Animal and Plant health Inspection Service (APHIS). www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome (bezocht: 9 oktober 2018)
26. Plant-Host Interactions, PHI-base. <http://www.phi-base.org/searchFacet.htm?queryTerm=Talaromyces> (bezocht: 9 oktober 2018)
27. Mycobank. Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks. www.mycobank.org (bezocht: 9 oktober 2018)
28. Q-Bank. Comprehensive databases on quarantine plant pests and diseases. www.q-bank.eu/Fungi/ (bezocht: 9 oktober 2018)