

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 18 januari 2021
KENMERK CGM/210118-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie gistsoort *Lachancea thermotolerans*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld '*Humicola insolens*, *Ideonella sakaiensis*, *Lachancea thermotolerans*, *Kluyveromyces lactis* / *Kluyveromyces thermotolerans*, *Streptomyces muensis*' (IG 20-275_2.13-000), ingediend door de Vrije Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de gistsoort *Lachancea thermotolerans*.

L. thermotolerans kan zich asexueel vermeerderen via 'budding' en seksueel voorplanten middels ascosporen. *L. thermotolerans* is terug te vinden in een breed scala aan leefomgevingen waaronder insecten, aarde, planten en voedsel. *L. thermotolerans* is een gist die, net als de bekendere *Saccharomyces* gisten, wordt ingezet voor de productie van gefermenteerde levensmiddelen zoals wijn en bier. Commerciële mixen van *Saccharomyces cerevisiae* en *L. thermotolerans* voor wijnproductie zijn al op de markt gebracht. Daarnaast toont onderzoek aan dat *L. thermotolerans* door het uitscheiden van organische vluchtige stoffen de groei van pathogene schimmels kan belemmeren.

Er zijn geen publicaties bekend die *Lachancea thermotolerans* in verband brengen met pathogeniteit voor plant, mens of dier. Er zijn diverse publicaties waarbij de positieve eigenschappen voor *L. thermotolerans* worden beschreven, onder andere als antagonist voor toxische schimmels en in de wijnproductie, waarbij het organisme een historie van veilig gebruik heeft.

Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM om *L. thermotolerans* 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.

- Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Pathogeniteitsclassificatie van *Lachancea thermotolerans*

COGEM advies CGM/210118-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Vrije Universiteit, is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de gistsoort *Lachancea thermotolerans* (IG 20-275) en de plaatsing van deze soort op Bijlage 2, Lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹

Tevens is de GOCEM naar aanleiding van het verzoek gevraagd te adviseren over de bacteriesoorten *Ideonella sakaiensis* en *Streptomyces muensis* (IG 20-275) en diens plaatsing op Bijlage 2, Lijst A1 van de Regeling ggo. Gezien het hier verschillende organismen betreft, heeft de COGEM uit praktische overwegingen aparte adviezen opgesteld voor de bacteriesoorten (CGM/210118-02) en de gistsoort. Het onderhavige advies betreft enkel de gistsoort *Lachancea thermotolerans*.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling genetisch gemodificeerde organismen (ggo)

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

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.

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.

Opportunistische pathogenen, die uitsluitend ziekte kunnen veroorzaken bij individuen met een verzwakt immuunsysteem of een onderliggend ziektebeeld, 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.

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. Beschrijving organisme

Gisten behoren tot het rijk van de schimmels (Fungi) en kunnen zich vaak zowel ongeslachtelijk als geslachtelijk voortplanten. Omdat de geslachtelijke (teleomorfe) en ongeslachtelijke (anamorfe) stadia er verschillend uitzien, hebben schimmels in het verleden verschillende 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 een schimmel slechts één naam mag hebben. 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. Gisten werden tevens in het verleden niet enkel op basis van morfologie (van seksuele en de aseksuele stadia) maar ook op fysiologische kenmerken (fermentatie- en groeitesten) in genera ingedeeld. De toenemende informatie over genoomsequenties laat zien dat overeenkomsten in deze kenmerken geen correcte voorstelling geven van de genetische verwantschap van gisten, waardoor de taxonomie aan verandering onderhevig is.

Het genus *Lachancea* is in 2003 gedefinieerd en beschreven, en bevat soorten die voorheen in de genera *Zygosaccharomyces*, *Kluyveromyces* en *Saccharomyces* waren ingedeeld.^{2,3} Zo was de gistsoort *Lachancea thermotolerans* voorheen bekend als *Kluyveromyces thermotolerans* en *Zygosaccharomyces thermotolerans*.³ *L. thermotolerans* behoort tot de familie *Saccharomycetaceae*, welke ook het goed bestudeerde bakkersgist *Saccharomyces cerevisiae* bevat. Het *Lachancea* genus is evolutionair gezien eerder afgesplitst van de *Saccharomyces* soorten en heeft geen volledige genoomduplicatie doorgemaakt: *S. cerevisiae* telt 16 chromosomen, *L. thermotolerans* heeft 8 chromosomen.⁴

L. thermotolerans gistcellen kunnen zich als eencelligen aseksueel vermeerderen middels splijting en knopvorming ('budding') en seksueel voortplanten middels ascosporen, wat kenmerkend is voor ascomyceten (zakjeszwammen).³ *L. thermotolerans* is terug te vinden in een breed scala aan

leefomgevingen waaronder insecten, aarde, planten en voedsel.⁵ *L. thermotolerans* is een gist die, net als de bekendere *Saccharomyces* gisten, wordt ingezet voor de productie wijn en bier.^{6,7,8,9} In tegenstelling tot andere gisten, kan *L. thermotolerans* tijdens de alcoholische fermentatie ook melkzuur produceren. Commerciële mixen van *Saccharomyces cerevisiae* en *L. thermotolerans* voor wijnproductie zijn al op de markt gebracht.^{6,10,11}

Naast het gebruik van *L. thermotolerans* in de levensmiddelenindustrie wordt er ook onderzoek verricht naar andere eigenschappen van deze gist. Onderzoek naar de interactie tussen *L. thermotolerans* en toxine-producerende schimmels zoals *Aspergillus*- en *Fusarium*-soorten toont aan dat *L. thermotolerans* door het uitscheiden van organische vluchtige stoffen de groei van deze pathogene schimmels kan belemmeren.^{12,13}

4. Eerder COGEM advies en internationale classificaties

In 2010 en 2018 heeft de COGEM de gistsoort *Lachancea kluyveri* (aanvankelijk bekend als *Saccharomyces kluyveri*) ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1 (CGM100517-01; CGM180430-01). Over andere *Lachancea* gistsoorten heeft de COGEM nog niet geadviseerd.

Enkele buitenlandse instanties hebben *L. thermotolerans* reeds geclassificeerd. De ‘American Type Culture Collection’(ATCC) heeft *L. thermotolerans* ingedeeld op het laagste veiligheidsniveau (‘Biosafety level 1’).¹⁴ In de Duitse ‘Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen’ (DSMZ) is het *L. thermotolerans* synoniem *K. thermotolerans* ingedeeld in risicogroep 1.¹⁵ De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

5. Overweging

Het *Lachancea* genus kent 11 soorten.^{16,17} Er is één geval beschreven waarbij de gistsoort *Lachancea fermentati* als ziekteverwekker is aangetroffen in een patiënt met een verzwakt immuunsysteem.¹⁸ Van deze patiënt was bekend dat hij zijn eigen bier brouwde. Naast dit rapport zijn er geen andere publicaties bekend bij de COGEM die *Lachancea*-soorten in verband brengen met pathogeniteit voor mens, dier of plant. Tevens staan er geen *Lachancea*-soorten vermeld als plantpathogenen in ‘online databases’.^{19,20,21}

L. thermotolerans is in de wetenschappelijke literatuur niet in verband gebracht met pathogeniteit voor mens, dier of plant. Er zijn diverse publicaties waarbij de positieve eigenschappen voor *L. thermotolerans* worden beschreven, onder andere als antagonist voor pathogene schimmelsoorten. Daarnaast wordt *L. thermolans* gebruikt voor de productie van wijn en bier.

6. Advies

Het voorgaande in overweging nemende, adviseert de COGEM om *Lachancea thermotolerans* in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen in Bijlage 2, Lijst A1, van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2019-07-01> (bezoekt op 08-01-2021)
2. Porter TJ *et al.* (2019). *Lachancea* yeast species: Origin, biochemical characteristics and oenological significance. *Food Res. Int.* 119: 378-389.
3. 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.
4. Naumova ES *et al.* (2007). Molecular systematics of *Lachancea* yeasts. *Biochem. (Moscow)* 72: 1356-1362.
5. Hranilovic A *et al.* (2017). The evolution of *Lachancea thermotolerans* is driven by geographical determination, anthropisation and flux between different ecosystems. *PLoS One*, 12(9), e0184652.
6. Jolly NP *et al.* (2014). Not your ordinary yeast: non-*Saccharomyces* yeasts in wine production uncovered. *FEMS Yeast Res.*, 14: 215-237.
7. Domizio P *et al.* (2016). *Lachancea thermotolerans* as an alternative yeast for the production of beer. *J. Inst. Brew.* 122: 599-604.
8. Hranilovic A *et al.* (2018). Oenological traits of *Lachancea thermotolerans* show signs of domestication and allopatric differentiation. *Sci. Rep.* 8: 1-13.
9. Vilela A (2018). *Lachancea thermotolerans*, the Non-*Saccharomyces* yeast that reduces the volatile acidity of wines. *Fermentation*, 4: 56.
10. CHR Hansen, micro-organisms for fermented beverages. <https://www.chr-hansen.com/en/food-cultures-and-enzymes/fermented-beverages> (bezoekt op 08-01-2021)
11. Lallemand Oenology. Product: Level 2 LAKTIA <https://www.lallemandwine.com/en/australia/products/catalogue/wine-yeasts/109/level-2-solutions-laktia/> (bezoekt op 08-01-2021)
12. Zeidan R *et al.* (2018). Application of low-fermenting yeast *Lachancea thermotolerans* for the control of toxigenic fungi *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium verrucosum* and *Fusarium graminearum* and their mycotoxins. *Toxins*, 10: 242.
13. Fiori S *et al.* (2014). Biocontrol activity of four non- and low-fermenting yeast strains against *Aspergillus carbonarius* and their ability to remove ochratoxin A from grape juice. *Int. J. Food Microbiol.* 189: 45-50.
14. American Type Culture Collection (ATCC). URL: <https://www.atcc.org/products> (bezoekt 08-01-2021)
15. DSMZ – German Collection of Microorganisms and Cell Cultures GmbH, *Kluyveromyces thermotolerans* DSM3434; <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/details/culture/DSM-3434> (bezoekt op 08-01-2021)
16. NCBI taxonomy. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi> (bezoekt op 08-01-2021)
17. The MycoBank Database - Fungal Databases, Nomenclature & Species Banks <https://www.mycobank.org/> (bezoekt op 08-01-2021)
18. Leuck AM *et al.* (2014). Fungemia due to *Lachancea fermentati*: a case report. *BMC Infect. Dis.* 14: 250.
19. USDA ARS Fungal database. <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/> (bezoekt op 08-01-2021)
20. Plant-Host Interactions, PHI-base. <http://www.phibase.org/> (bezoekt op 08-01-2021)
21. EPPO-Q-Bank. Comprehensive databases on quarantine plant pests and disease. <https://qbank.eppo.int/> (bezoekt op 08-01-2021)