

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

DATUM 12 juli 2021
KENMERK CGM/210712-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *A. tubingensis*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een verzoek van de Faculteit Bètawetenschappen van de Universiteit Utrecht (IG 21-107_2.13-000), is de COGEM gevraagd om te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Aspergillus tubingensis* (*Aspergillus niger* var. *tubingensis*) en over de plaatsing van deze schimmelsoort op Lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo. De COGEM deelt u hierover het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Aspergillus tubingensis* en de plaatsing van dit organisme op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

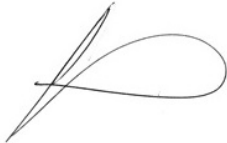
A. tubingensis is een schimmel die schimmeldraden maakt die zich vertakken. Deze schimmel produceert aseksuele sporen die zich via de lucht verspreiden. De soort komt wijdverspreid voor op dood plantmateriaal en (bewerkte) plant- en voedselproducten.

A. tubingensis kan ziekte veroorzaken in verschillende plantensoorten, waaronder bladvlekkenziekte in katoen, purgeernoten en nieskruidsoorten. Tevens kan deze schimmelsoort stengelkanker in druiven veroorzaken en het kiemvermogen van zaden van de dadelpalm verminderen. Het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM om de schimmelsoort *A. tubingensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als plantpathogene schimmelsoort. Zij adviseert deze schimmelsoort tevens op te nemen op Bijlage 4 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. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's
DG Milieu en Internationaal

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. J.J.P.A. de Cock niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Pathogeniteitsclassificatie van de schimmelsoort *Aspergillus tubingensis*

COGEM advies CGM/210712-02

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Faculteit Bètawetenschappen van de Universiteit Utrecht is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Aspergillus tubingensis* en over de plaatsing van deze schimmelsoort op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit een lijst van micro-organismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat onder ML-I laboratoriumcondities met het betreffende micro-organisme ggo's vervaardigd mogen worden indien hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties die niet, op de A-lijsten staan (lijst A2 veilige vectoren en lijst A3 inserties).

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.

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, 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. Taxonomie en naamgeving

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

Veel schimmels hebben zowel een geslachtelijk (teleomorf) als een ongeslachtelijk (anamorf) stadium. Omdat 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 komt te vervallen en dat vanaf januari 2013 één schimmel slechts één naam mag hebben.² Op dit moment bevindt het nomenclatuursysteem van schimmels zich nog steeds in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

4. *Aspergillus*

Soorten behorende tot het geslacht *Aspergillus* zijn filamenteuze schimmelsoorten met verscheidene industriële toepassingen. *Aspergillus*soorten zijn in staat in veel verschillende niches te groeien, maar worden voornamelijk aangetroffen in de bodem en op rottende vegetatie.³ *Aspergillus*soorten produceren aseksuele sporen (conidia) waarmee ze zich door de lucht verspreiden. Deze sporen worden door mens- en dier veelvuldig ingeademd.⁴ Sommige *aspergillus*soorten hebben ook een teleomorf stadium.⁵

Schimmelsoorten behorende tot de sectie *Nigri*, zoals *A. tubensis* en *A. niger*, zijn morfologisch en fylogenetisch zeer gelijkend aan elkaar, maar kunnen onderscheiden worden door middel van moleculaire technieken zoals PCR, DNA sequencing, of MALDI-TOF massaspectrometrie.⁹ De snelle ontwikkeling van moleculair biologische technieken om micro-organismen van elkaar te kunnen onderscheiden, heeft ertoe geleid dat veel *aspergillus*soorten die eerder als *Aspergillus* sectie *Nigri* zijn geïdentificeerd, inmiddels zijn geïdentificeerd als *A. tubingensis*.^{6,8}

4.1 *Aspergillus tubingensis*

Aspergillus tubingensis, (voorheen *Aspergillus niger* var. *tubingensis*) is een schimmelsoort die behoort tot de orde van de *Eurotiales*, het geslacht *Aspergillus* en het complex *Aspergillus niger*, sectie *Nigri*.^{7,8} Soorten uit de sectie *Nigri* zijn in staat zeer goed te groeien bij temperaturen tussen de 37 en 40°C. *A.*

tubingensis wordt frequent aangetroffen op dood plantmateriaal en (bewerkte) voedselproducten zoals druiven, ananas, amandelen, walnoten, graanproducten en koffie.^{7,9,10} Recentelijk is seksuele reproductie in *A. tubingensis* beschreven.¹¹ Deze schimmelsoort wordt bestudeerd voor industriële toepassingen, zoals voor de productie van enzymen als arabinase, glucanase en glucose-oxidase, de afbraak van plastic, en voor de bestrijding van de schimmel *Fusarium solani* op tomatenplanten.^{12,13,14,15} Glucanase geproduceerd door *A. tubingensis* MUCL 39199 is door de EFSA goedgekeurd als additief voor kuilvoer voor dieren.¹⁶

A. tubingensis kan infecties, zoals invasieve pulmonaire aspergillose (IPA), veroorzaken in immuungecompromitteerde patiënten, waaronder kankerpatiënten.^{6,7,8,17} Ook is beschreven dat *A. tubingensis* een huidabces veroorzaakte in een patiënt met diabetes mellitus type 2.¹⁸

In de spons *Chondrosia reniformis* is een infectie beschreven die veroorzaakt werd door *A. tubingensis* en resulteerde in de dood van de spons.¹⁹

Gerapporteerd is dat *A. tubingensis* een zaadpathogeen is. Deze schimmelsoort is aangetroffen in dadelpalmzaden, inoculatie van dadelpalmzaden bleek de kieming te remmen en de schimmel is pathogeen voor zaailingen.²⁰ In Pakistan veroorzaakt *A. tubingensis* bladvlekkenziekte in de katoenteelt.²¹ Ook in purgeernoten (*Jatropha curcas*) en nieskruidsoorten (*Helleborus*) is *A. tubingensis* beschreven als veroorzaker van bladvlekkenziekte.^{22,23} Tevens kan *A. tubingensis* stengelkanker veroorzaken in wijnstokken (*Vitis vinifera*) in Italië.²⁴

Aspergillussoorten worden vaak geassocieerd met voedselbederf. In aardbeien, granaatappels en muscaatdruiven is aangetoond dat *A. tubingensis* fruitrot kan veroorzaken.^{25,26,27}

5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft 34 aspergillussoorten, waaronder *A. niger* en *A. candidus*, geclassificeerd in pathogeniteitsklasse 1.²⁸ De soorten *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. lentulus*, *A. thermomutatus*, *A. terreus* en *A. versicolor* zijn door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.²⁸ De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *A. tubingensis*.

5.1 Classificatie door andere organisaties

De Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) van de Duitse Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA) heeft *A. tubingensis* ingedeeld in Risikogruppe 2.²⁹ Het American Type Culture Collection (ATCC) heeft werkzaamheden met *A. tubingensis* ingeschaald in BSL-1.³⁰ De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en advies

A. tubingensis is in staat infecties en ziekte te veroorzaken in immuungecompromitteerde patiënten of patiënten met een (onderliggende) aandoening, zoals IPA in kankerpatiënten en een huidabces in een patiënt met diabetes mellitus type 2.^{6,7,8,17,18} Er is één infectie beschreven van *A. tubingensis* in een spons.¹⁹ Dit in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *A. tubingensis* voor mensen en dieren ten hoogste een opportunistisch pathogeen is.

Deze schimmelsoort is in staat ziekte te veroorzaken in verschillende planten, waaronder bladvlekkenziekte in katoen, purgeernoten en nieskruidsoorten, en stengelkanker in wijnstokken.^{21,22,23,24} Het kiemvermogen van dadelpalmzaden kan ook verminderd worden door *A. tubingensis*.²⁰ Het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM om de schimmelsoort *A. tubingensis* in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als plantpathogene schimmelsoort. Zij adviseert deze schimmelsoort tevens op te nemen op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2021-04-01> (bezocht: 6 juli 2021)
2. 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
3. Van de Veerdonk *et al.* (2017). *Aspergillus fumigatus* morphology and dynamic host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 15: 661-674
4. Tischler B & Hohl T (2019). Menacing mold: recent advances in *Aspergillus* pathogenesis and host defense. *J. Mol. Biol.* 21:4229-4246
5. Dyer PS *et al.* (2011). A fungal sexual revolution: *Aspergillus* and *Penicillium* show the way. *Curr. Op. Microbiol* 14: 649-654
6. Gautier M *et al.* (2016). *Aspergillus tubingensis*: a major filamentous fungus found in the airways of patients with lung disease. *Med. Mycol.* 54: 459-470
7. Balajee SA *et al.* (2009). Molecular identification of *Aspergillus* species collected for the transplant-associated infection surveillance network. *J. Clin. Microbiol.* 47: 3138-3141
8. Bathoorn E *et al.* (2013). Involvement of the opportunistic pathogen *Aspergillus tubingensis* in osteomyelitis of the maxillary bone: a case report. *BMC Infect. Dis.* 13: 59
9. Susca A *et al.* (2007). Polymerase chain reaction (PCR) identification of *Aspergillus niger* and *Aspergillus tubingensis* based on the calmodulin gene. *Food Addit. Contam.* 24: 1154-1160
10. Tournas VH *et al.* (2015). Fungal presence in selected tree nuts and dried fruits. *Microbiol. Insights* 8: 1-6
11. Horn BW *et al.* (2013). Sexual reproduction in *Aspergillus tubingensis* from section *Nigri*. *Mycologia* 105: 1153-1163.
12. Okado N *et al.* (2020). Safety evaluation of arabinose (arabinan endo-1,5-

- 585.94 and *Aspergillus oryzae* ATTC SD-5374, endo-1,4-beta-glucanase from *Trichoderma reesei* ATCC PTA-10001, *Trichoderma reesei* ATCC SD-6331 and *Aspergillus niger* CBS 120604, endo-1,4-beta-xylanase from *Trichoderma koningii* MUCL 39203 and *Trichoderma citrinoviride* CBS 614.94 and endo-1,3(4)-beta-glucanase from *Aspergillus tubingensis* MUCL 39199 as silage additives for all animal species. EFSA J. 16: 5224
17. Harada S *et al.* (2020). Fatal invasive pulmonary aspergillosis caused by voriconazole resistant *Aspergillus tubingensis* in a patient with solid tumor. J. Infect. Chemother. 26: 301-304
 18. Frías-De-León MG *et al.* (2018). Identification of *Aspergillus tubingensis* in a primary skin infection. J. Mycol. Med. 28: 274-278
 19. Greco G *et al.* (2019). First identification of a fatal fungal infection of the marine sponge *Chondrosia reniformis* by *Aspergillus tubingensis*. Dis. Aquat. Org. 135: 227-239
 20. Alomran M *et al.* (2020). *Aspergillus tubingensis* is a pre-emergent pathogen of date palm seedlings. Forests 11: doi:10.3390/f11121327
 21. Khizar M *et al.* (2019) *Aspergillus tubingensis* causes leaf spot of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) in Pakistan. Phyton Int. J. Exp. Bot. 89: DOI: 10.32604/phyton.2020.08010
 22. Guo JW *et al.* (2017). First report of leaf spot disease caused by *Aspergillus tubingensis* on *Jatropha curcas* in Yunnan, China. Plant Dis. 101: doi:10.1094/PDIS-08-16-1183-PDN
 23. Liaquat F *et al.* Presence of *Aspergillus tubingensis* causing leaf spot disease of *Helleborus* species in Shanghai, China. Plant Dis. 103: doi.org/10.1094/PDIS-07-18-1226-PDN
 24. Vitale A *et al.* (2012). Molecular characterisation and pathogenicity of *Aspergillus* sect. *Nigri* causing *Aspergillus* vine canker of table grapes in Italy. Eur. J. Plant Pathol. 132: 483-487
 25. Guo MJ *et al.* (2021). Identification of *Aspergillus tubingensis* causing pomegranate fruit rot in China. Australas. Plant. Pathol. 50: 233–240
 26. Lim YS *et al.* (2019). First report of bunch rot caused by *Aspergillus tubingensis* of shine muscat grape in Korea. Plant Dis. 103: doi:10.1094/PDIS-05-19-1104-PDN
 27. Palmer MG *et al.* (2019). First report of *Aspergillus tubingensis* causing strawberry fruit rot in California. Plant Dis. 103: doi.org/10.1094/PDIS-05-19-0978-PDN
 28. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/180430-01
 29. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA) – Technische regeln für Biologische Arbeitsstoffe. Einstufung von Pilzen in Risikogruppen. TRBA 460. https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-460.pdf?__blob=publicationFile&v=5 (bezoekt 1 juli 2021)
 30. American Type Culture Collection (ATCC). <https://www.atcc.org/products> (bezoekt 7 juli 2021)