

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

**DATUM** 5 augustus 2021  
**KENMERK** CGM/210805-01  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie *A. parvulus* en *C. aeruginascens*

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van twee verzoeken van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) (IG 21-129\_2.13-000 en IG 21-130\_2.13-000), om de schimmelsoorten *Aspergillus parvulus* en *Chlorociboria aeruginascens* op Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo te plaatsen, deelt de COGEM u hierover het volgende mee.


**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoorten *Aspergillus parvulus* en *Chlorociboria aeruginascens*, en de plaatsing van deze organismen op Lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.

*A. parvulus* is een schimmel die algemeen in de bodem voorkomt. In 1961 is *A. parvulus* voor het eerst geïsoleerd uit de bodem in de Verenigde Staten. Ook is de soort geïsoleerd uit kippenvoer in Argentinië.

*C. aeruginascens*, de Gewone kopergroenbekerzwam (de naam van de aseksuele vorm is *Dothiorina tulasnei*) groeit op dode takken en bomen in bossen in streken met een gematigd klimaat. De soort is zeldzaam in Nederland. De gevormde bekerzwammen van deze schimmelsoort produceren een pigment met een karakteristieke, blauwgroene kleur, dat het hout verkleurt.

De COGEM heeft geen aanwijzingen gevonden voor pathogeniteit van *A. parvulus* en *C. aeruginascens* in mens, dier of plant. Zij adviseert deze schimmelsoorten in te delen in pathogeniteitsklasse 1 en op te nemen op 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. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo  
Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's  
DG Milieu en Internationaal

# **Pathogeniteitsclassificatie van *Aspergillus parvulus* en *Clorociboria aeruginascens* (Gewone kopergroenbekerzwam)**

## **COGEM advies CGM/210805-01**

### **1. Inleiding**

Naar aanleiding van twee verzoeken van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) (IG 21-129 en IG 21-130), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoorten *Aspergillus parvulus* en *Clorociboria aeruginascens* en over plaatsing van deze soorten op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.<sup>1</sup> 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 genomesequenties 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.<sup>2</sup> 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 parvulus***

*Aspergillus parvulus* is een sporenvormende schimmelsoort die behoort tot de *Ascomycota*, de orde van de *Eurotiales*, het genus *Aspergillus* en de sectie *Cervini*.<sup>3</sup> Het organisme kan worden geïsoleerd uit bodemmonsters.<sup>3</sup> *A. parvulus* is voor het eerst in 1961 geïsoleerd uit bodemmonsters in de Verenigde Staten, en kippenvoer in Argentinië.<sup>4,5</sup> Beschreven is dat de schimmel een breed spectrum aan antibacteriële en fytoxische (tegen algen) activiteit vertoont.<sup>3,6,7</sup>

### **5. *Chlorociboria aeruginascens***

*Chlorociboria aeruginascens* (Gewone kopergroenbekerzwam; 'green elf cup') is een saprofytische schimmelsoort behorende tot de *Ascomycota* en de orde *Heliales*.<sup>8</sup> De anamorfe naam van *C. aeruginascens* is *Dothiorina tulasnei*.<sup>9</sup> Soorten die tot het genus *Chlorociboria* behoren, komen voor op en in het hout van bomen van bossen in gematigde klimaten, met name op populieren, berken, beuken, eiken, elzen en suikeresdoorns, maar soms ook op pijnbomen en ceders.<sup>9</sup> *C. aeruginascens* kan houtrot (zogenaamde 'soft rot') veroorzaken.<sup>8</sup> De vruchtlichamen (apothecia) van *C. aeruginascens* kunnen tot 5 mm in diameter worden en hebben een karakteristieke, blauwgroene kleur. Ook de takken en stammen waarop de schimmel groeit kunnen blauwgroen verkleuren. Deze kleur wordt veroorzaakt door het pigment xylinein.<sup>9,10</sup> Hoewel het door xylinein gekleurde hout al sinds de 15<sup>e</sup> eeuw onder meer als gekleurde inleg in (houten) kunst- en gebruiksvoorwerpen wordt gebruikt, zijn er nog geen grootschalige industriële toepassingen voor dit pigment, omdat het lastig te verkrijgen is en er geen synthetische

vormen van beschikbaar zijn.<sup>9,11</sup> Gezuiverd xylindein geproduceerd door *Chlorociboria aeruginascens* en *Chlorociboria aeruginosa* bleek geen toxiciteit te vertonen voor embryo's van zebrafissen.<sup>12</sup>

## 6. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over *A. parvulus* en *C. aeruginascens*. De COGEM heeft 41 aspergillussoorten geïdentificeerd, maar geen van deze soorten behoren tot de sectie *Cervini*.<sup>3,13</sup>

## 7. Classificatie door andere organisaties

Het American Type Culture Collection (ATCC) heeft werkzaamheden met *A. parvulus* en *C. aeruginascens* ingedeeld op veiligheidsniveau BSL-I.<sup>14,15</sup> De inschaling door deze buitenlandse instantie geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

## 8. 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. Een lange historie van veilig gebruik, waarbij geen nadelige effecten zijn gerapporteerd, vormt in dit opzicht een belangrijk referentiekader voor apathogeniteit. Als kanttekening moet hierbij opgemerkt worden dat effecten mogelijk moeilijk worden opgemerkt als zij niet erg uitgesproken van aard zijn en er niet gericht naar wordt gezocht. Anderzijds zijn veruit de meeste micro-organismen apathogeen. Daarom worden micro-organismen bij afwezigheid van expliciete aanwijzingen voor pathogeniteit bij langdurig gebruik als apathogeen beschouwd.

*Aspergillus parvulus* komt algemeen voor in de bodem<sup>3,4</sup> en beschreven is dat de schimmel antibacteriële en fytotoxische activiteiten tegen algen vertoont.<sup>6,7</sup> Er zijn bij de COGEM geen literatuur of aanwijzingen bekend waarbij *A. parvulus* in verband wordt gebracht bij ziekte in mens, dier of plant.

*Chlorociboria aeruginascens* (*Dothiorina tulasnei*) is een saprofyte schimmelsoort die veelvuldig voorkomt op en in het hout van bomen in bossen in gebieden met een gematigd klimaat.<sup>9</sup> *C. aeruginascens* produceert het blauwgroene pigment xylindein, wat de karakteristieke blauwgroene verkleuring op hout veroorzaakt.<sup>10</sup> Bij blootstelling van zebrafissembryo's aan gezuiverd xylindein werd geen toxiciteit waargenomen.<sup>12</sup> *C. aeruginascens* kan een houtrot (zogenoeten 'soft rot') veroorzaken, maar heeft hier een hoge luchtvochtigheid voor nodig.<sup>8</sup> Er zijn bij de COGEM geen literatuur of aanwijzingen bekend waarbij *C. aeruginascens* in verband wordt gebracht bij ziekte in mens, dier of plant.

Alles in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat de schimmelsoorten *A. parvulus* en *C. aeruginascens* apathogeen zijn, en adviseert zij deze schimmelsoorten in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Tevens is zij van oordeel dat *A. parvulus* en *C. aeruginascens* in aanmerking komen voor plaatsing op lijst A1 van Bijlage 2 van de Regeling ggo.<sup>1</sup>

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2014). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2021-04-01> (bezocht: 27 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. Chen AJ *et al.* (2016). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Cervini*. *Stud. Mycol.* 85: 65-89
4. Smith G (1961). Some new and interesting species of micro-fungi. II. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 44: 42-50
5. Magnoli C *et al.* (1998). Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. *Mycopathologia* 142: 27-32
6. Tsyganenko KS & Zaichenko OM (2004). Antibiotic and phytotoxic properties of some *Aspergillus parvulus* Smith strains. *Mikrobiolohichnyi Zh.* 66:62–67 [Artikel in Oekraïens].
7. Tsyganenko KS & Zaichenko OM. (2004). Antibiotic properties of some species of genus *Aspergillus* MICH. *Mikrobiolohichnyi Zh.* 66: 56–61 [Artikel in Oekraïens]
8. Richter DL, Glaeser JA (2015). Wood decay by *Chlorociboria aeruginascens* (Nyl.) Kanouse (Helotiales, Leotiaceae) and associated basidiomycete fungi. *Int. Biodeter. Biodegr.* 105: 239-244
9. Tudor D *et al.* (2014). Morphological and molecular characterization of the two known North American *Chlorociboria* species and their anamorphs. *Fungal Biol.* 118: 732-742
10. Rommier PTA (1868). Sur un nouvelle matière colorante appelée xylindeine et extraite de certains bois morts. *Comptes Rendus Hebd. Des Séances De L'académie Des Sci.* 66: 108–109.
11. Blanchette RA *et al.* (1992). The use of green-stained wood caused by the fungus *Chlorociboria* in intarsia<sup>1</sup> masterpieces from the 15<sup>th</sup> century. *Holzforschung* 46: 225-232
12. Almurshidi BH *et al.* (2021). Preliminary examination of the toxicity of spalting fungal pigments: a comparison between extraction methods. *J. Fungi* 7: 155
13. COGEM (2018). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal apathogene en pathogene schimmels. COGEM advies CGM/180430-01
14. American Type Culture Collection, *Aspergillus parvulus* Smith, anamorph. <https://www.atcc.org/products/66560> (bezocht: 28 juli 2021)
15. American Type Culture Collection, *Chlorociboria aeruginascens* (Nylander) Kanouse ex Rammamurthi *et al.*, teleomorph. <https://www.atcc.org/products/200366> (bezocht: 28 juli 2021)