

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 28 augustus 2023
KENMERK CGM/230828-02
ONDERWERP Advies Pathogeniteitsclassificatie van schimmel *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* (syn. *Rhizopus oligosporus*)

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een verzoek van de Universiteit Utrecht om de schimmelsoort *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* op Bijlage 2, lijst A1 te plaatsen (IG 23-117_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Rhizopus microsporus* variëteit *oligosporus* en de plaatsing van deze schimmel op Bijlage 2, lijst A1 (apathogene gastheerorganismen) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen'. *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* is een schimmel die gebruikt wordt om tempelhoren te maken door fermentatie van sojabonen. Er is discussie in de wetenschappelijke literatuur of deze schimmel een variëteit is van *R. microsporus* (*R. microsporus* var. *oligosporus*) of een aparte soort, *Rhizopus oligosporus*. Omdat de schimmel als *R. microsporus* var. *oligosporus* is aangevraagd, wordt deze benaming in dit advies gehanteerd.

Infecties bij mensen door *R. microsporus* var. *oligosporus* komen zeer zelden voor, en alleen bij patiënten waarvan het immuunsysteem onderdrukt is, of die een onderliggend ziektebeeld hebben.

In sommige stammen van *R. microsporus* zijn endosymbiotische bacteriën aanwezig die ziekte kunnen veroorzaken. Endosymbiotische bacteriën uit het geslacht *Mycetohabitans* produceren toxines die onder andere betrokken zijn bij rijstzaailingziekte. Echter, *R. microsporus* var. *oligosporus* is niet aangetroffen bij gevallen van rijstzaailingziekte. De bacterie *Burkholderia gladioli* pathovar. *cocovenenans*, die in sommige stammen van *R. microsporus* var. *oligosporus* aanwezig is, produceert toxines die kunnen leiden tot ernstige voedselvergiftiging.

De COGEM adviseert *R. microsporus* var. *oligosporus* in te delen in pathogeniteitsklasse 1, en deze 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. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Dit advies is mede tot stand gekomen met de inbreng van em. prof. dr. R.A. Samson. Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. J.J.P.A. de Cock niet betrokken geweest bij de besluitvorming van dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van schimmel *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* (syn. *Rhizopus oligosporus*)

COGEM advies CGM/230828-02

1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van het Universiteit Utrecht (IG 23-117) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelvariëteit *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*. Zoals in paragraaf 5 van dit advies wordt beschreven, is de taxonomie van deze schimmel onderhevig aan discussie. In het advies wordt de naam *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* gebruikt omdat de classificatieaanvraag is gedaan onder deze naam. Ook is de COGEM gevraagd te adviseren over plaatsing van de schimmelvariëteit op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit lijsten van gastheerorganismen die apathogeen zijn voor mens, dier of plant. Opname op Bijlage 2, lijst A1 betekent dat met het betreffende micro-organisme onder ML-I laboratoriumcondities ggo's vervaardigd mogen worden, mits hierbij vectoren worden gebruikt die wél, of inserties worden gebruikt die níet, 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 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 Regeling ggo¹ geplaatst worden.

3. Taxonomie en naamgeving

De taxonomie van schimmels is complex. Mede door de toenemende informatie over genoom-sequenties 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 Het nomenclatuursysteem van schimmels bevindt zich nog steeds in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

4. Het genus *Rhizopus*

Het genus *Rhizopus* behoort tot de familie van *Mucoraceae*, en de orde van *Mucorales*.³ Deze zygomyceten hebben vertakkende schimmeldraden en reproducen door zowel seksuele als asexuele sporevorming. De ongeslachtelijke sporangiosporen die geproduceerd worden in het sporangium (sporendoosje), verspreiden zich onder andere via de lucht.⁴ Bij geslachtelijke voortplanting via fusering van paringshyfen ontstaat een zygospore.

Rhizopussoorten worden onder andere als saprotrofe schimmels op dode plantmateriaal aangetroffen, in landbouwgrond en in de bodem van bossen. Ze komen ook voor op rijpe groenten en fruit, jam, brood, pinda's, leer en tabak.⁴ In Azië en Oceanië worden rhizopussoorten gebruikt bij de productie van alcoholhoudende dranken, of voor fermentatie bij bijvoorbeeld de productie van tempeh.⁵ Sommige rhizopussoorten kunnen optreden als opportunistische humane pathogenen, met soms fatale afloop door mucormycose (ernstige infecties veroorzaakt door schimmels uit de *Mucorales* orde). Mucormycose vindt voornamelijk plaats bij immuun-gecompromitteerde patiënten.⁶

4.1 Endosymbiotische bacteriën in *Rhizopus microsporus*

Verschillende stammen van *R. microsporus* worden geassocieerd met rijstzaailingziekte ('rice seedling blight'). De ziekte wordt veroorzaakt door toxines die geproduceerd worden door de endosymbiotische bacteriesoorten *Mycetohabitans* (voorheen bekend als *Burkholderia*) *rhizoxinica* of *Mycetohabitans endofungorum* die in de *R. microsporus* aanwezig kunnen zijn.^{7,8,9,10} *Mycetohabitans*-stammen produceren het anti-mitotische toxine rhizoxin, dat de rijstzaailingen verzwakt of doodt, waardoor nutriënten vrijkomen voor zowel de schimmel als de bacterie.^{7,11,12,13} Daarnaast produceren enkele *Mycetohabitans*-stammen ook het toxische rhizonin, dat bij mens en dier na consumptie de lever aantast.^{8,12,14,15} De intracellulaire *Mycetohabitans*-bacteriën worden verticaal overgedragen en niet alle *R. microsporus* stammen bevatten deze *Mycetohabitans*-bacteriën. De bacteriën spelen mogelijk een rol in (a)seksuele spoorvorming van de *R. microsporus*,^{16,17} hoewel de schimmel ook in staat is sporen te vormen wanneer er geen endobacteriën aanwezig zijn.¹⁸ Naast de *Mycetohabitans*-stammen, kunnen er in sommige stammen van *R. microsporus* ook *Burkholderia* bacteriën aanwezig zijn.¹⁹ Ook zijn er aanwijzingen dat de aanwezigheid van narnavirussen ook een rol spelen in de seksuele spoorvorming van *R. microsporus*.²⁰

5. De variant *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus*

Over de exacte taxonomische indeling van de schimmel *R. microsporus* var. *oligosporus* is nog geen consensus.^{21,22} Het onderscheid tussen *R. microsporus* en *R. microsporus* var. *oligosporus* berust voornamelijk op de sporen morfologie.²³ Op basis van sequentiehomologie van DNA sequenties tussen de rRNA genen (internal transcribed spacer; ITS) en (delen van) twee andere genen is geen verschil gevonden tussen *R. microsporus* en *R. microsporus* var. *oligosporus*.^{24,25,26,27} Door sommige taxonomen wordt *R. microsporus* var. *oligosporus* beschouwd als een aparte soort met de soortnaam *R. oligosporus*.²² Ook wordt *R. microsporus* var. *oligosporus* soms expliciet afgekort tot *R. oligosporus*. Omdat de COGEM verzocht is *R. microsporus* var. *oligosporus* te classificeren, wordt in onderstaande paragrafen de naam *R. microsporus* var. *oligosporus* gebruikt als synoniem van *R. oligosporus*.

R. microsporus variëteit *oligosporus* wordt al eeuwenlang gebruikt voor de fermentatie van gekookte sojabonen om tempeh te produceren.²⁸ Een starter met *R. microsporus* var. *oligosporus* sporen wordt toegevoegd aan een dunne laag sojabonen. Na 24-48 uur fermentatie onder lage zuurstofcondities zijn de bonen bedekt met een wit mycelium en kan de verse tempeh worden gegeten of verder worden verwerkt zodat het langer bewaard kan worden.²⁸

In vergelijking met andere *R. microsporus* stammen heeft var. *oligosporus* een relatief grote hoeveelheid (10-30%) sporen die qua morfologie afwijken.²³ Hiervan wordt geopperd dat dit een gevolg zou kunnen zijn van de domesticatie tijdens het langdurige gebruik van var. *oligosporus* in de productie van tempeh. Het is onbekend wat het effect is van de afwijkende sporen op de mogelijke aanwezigheid van *Mycetohabitans*-bacteriën en de productie van toxines door deze endosymbionten. Er zijn in de literatuur negen stammen van *R. microsporus* var. *oligosporus* getest op aanwezigheid van rhizoxins en rhizonins.^{18,29} Bij één van deze uit tempeh geïsoleerde stammen (CBS 339.62) bleken

rhizoxins en rhizonins geproduceerd te worden door de in de schimmel aanwezige *M. rhizoxinica*.¹⁸ Van deze schimmelstam is ongeveer 30% van de sporen afwijkend qua morfologie.²³

R. microsporus var. *oligosporus* is alleen geïsoleerd uit tempeh en andere gefermenteerde producten en is niet gevonden bij rijstplanten met rijstzaailingziekte.^{30,31} Naast tempehproductie wordt de *oligosporus* variëteit ook gebruikt voor de productie van tempeh bongkrek, een gefermenteerde cake van kokosvlokken.^{28,32} De endosymbiotische bacterie *Burkholderia gladioli* pathovar. *Cocovenenans*, voorheen bekend als *Pseudomonas cocovenenans*, die aanwezig kan zijn in de var. *oligosporus* die voor de productie van bongkrek gebruikt wordt, produceert de toxines bongkrekzuur ('bonkrekic acid') en toxoflavine.¹⁹ Het eten van hiermee gecontamineerd voedsel leidt tot ernstige voedselvergiftiging, waarvan zo'n 10% een dodelijke afloop heeft.^{33,34,35}

Er zijn drie casussen bekend in de literatuur waar *R. microsporus* var. *oligosporus* geïdentificeerd is als veroorzaker van mucormycose.^{36,37,38} In twee casussen betrof het een immuungecompromitteerde patiënt, de derde een immunocompetente patiënt die een rugoperatie had ondergaan een week voor deze symptomen van mucormycose vertoonde.

6. Eerder COGEM advies en classificatie door andere organisaties

De COGEM heeft vijf verschillende rhizopussoorten geïdentificeerd, waaronder de soort *Rhizopus microsporus*.³⁹ *R. microsporus* is, evenals de soorten *R. axyosporus*, en *R. schipperae*, ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De soorten *R. oryzae* en *R. stolonifer* zijn geïdentificeerd in klasse 2 als plantpathogene schimmels.

Het Duitse 'Bundesanstalt für die Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAUA) heeft in de 'Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe' (TRBA) *R. microsporus* in risicogroep 2 ingedeeld, maar noemt daarbij niet de variëteit *oligosporus*.⁴⁰ Ook de Canadese 'Public Health Agency' heeft *R. microsporus* in risicogroep 2 ingedeeld, zonder de variëteit *oligosporus* te noemen.⁴¹ De Belgische 'Biosafety server' heeft *R. microsporus* var. *oligosporus* ingedeeld in risicogroep 1 voor mensen en dieren.⁴² De Zwitserse 'Federal Office for the Environment' noemt *R. microsporus* var. *oligosporus*, maar heeft deze nog niet geïdentificeerd.⁴³ Het American Type Culture Collection (ATCC) heeft werkzaamheden met *R. microsporus* var. *oligosporus* ingeschaald in BSL-1.⁴⁴

7. Overweging en advies

R. microsporus var. *oligosporus* is een schimmel die wordt toegepast bij de productie van tempeh. Er zijn in de wetenschappelijke literatuur geen aanwijzingen dat deze schimmel ziekte veroorzaakt bij dier of plant. In zeldzame gevallen waarbij *R. microsporus* var. *oligosporus* aangetroffen is bij mucormycose in patiënten, betrof het patiënten met een onderliggend ziektebeeld of onderdrukt immuunsysteem. Hieruit kan geconcludeerd worden dat *R. microsporus* var. *oligosporus* geen ziekteverwekker is bij mensen, maar als opportunistisch pathogeen kan optreden.

COGEM merkt op dat in enkele stammen endosymbiotische toxine-producerende bacteriën aanwezig kunnen zijn. Wanneer de toxines in voedselproducten aanwezig zijn die met behulp van de schimmel bereid zijn kan dit tot voedselvergiftiging leiden.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *R. microsporus* var. *oligosporus* apathogeen is. De COGEM adviseert daarom *R. microsporus* var. *oligosporus* in te delen in pathogeniteitsklasse 1, en deze op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-04-01>
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. MYCOBANK database [20487]. <https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/38032> (bezocht op 18-8-2023)
4. Ribes JA *et al.* (2000). Zygomycetes in human disease. *Clin. Microbiol. Infect.* 13: 236-301
5. Schipper MAA & Stalpers JA (1984). A revision of the genus *Rhizopus*. *Studies in Mycol.* 25: 1-34
6. Steinbrink JM & Miceli MH (2021). Mucormycosis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 35: 435-452
7. Partida-Martinez L & Hertweck C (2005). Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production. *Nature* 437: 884–888
8. Partida-Martinez LP *et al.* (2007). Rhizonin, the first mycotoxin isolated from the zygomycota, is not a fungal metabolite but is produced by bacterial endosymbionts. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 793-797
9. Estrada-de Los Santos *et al.* (2018). Whole genome analyses suggests that *Burkholderia* sensu lato contains two additional novel genera (*Mycetohabitans* gen. nov., and *Trinickia* gen. nov.): implications for the evolution of diazotrophy and nodulation in the burkholderiaceae. *Genes* 9: 389
10. Oren A & Garrity GM (2016). List of new names and new combinations previously effectively, but not validly, published. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66: 2463–2466
11. Rohm B *et al.* (2010). Toxin production by bacterial endosymbionts of a *Rhizopus microsporus* strain used for tempe/sufu processing. *Int. J. Food Microbiol.* 136: 368-371
12. Niehs SP *et al.* (2018). Genomics-driven discovery of a symbiont-specific cyclopeptide from bacteria residing in the rice seedling blight fungus. *Chembiochem. Eur. J. Chem. Biol.* 19: 2167–2172
13. Hong J & White JD (2004). The chemistry and biology of rhizoxins, novel antitumor macrolides from *Rhizopus chinensis*. *Tetrahedron* 60: 5653e5681
14. Partida-Martinez LP & Hertweck C (2007). A gene cluster encoding rhizoxin biosynthesis in “*Burkholderia rhizoxina*”, the bacterial endosymbiont of the fungus *Rhizopus microsporus*. *ChemBioChem.* 8: 41–45
15. Lackner G *et al.* (2009). Global distribution and evolution of a toxinogenic *Burkholderia-Rhizopus* symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 2982–2986
16. Partida-Martinez LP *et al.* (2007). Endosymbiont-dependent host reproduction maintains bacterial-fungal mutualism. *Curr. Biol.* 17: 773-777

17. Mondo SJ *et al.* (2017). Bacterial endosymbionts influence host sexuality and reveal reproductive genes of early divergent fungi. *Nat. Commun.* 8: 1843
18. Dolatabadi S *et al.* (2016). Food preparation with mucoralean fungi: A potential biosafety issue? *Fungal Biol.* 120: 393-401
19. Van Veen A (1967). The bongkreks toxins. In: Mateles EI, Wogan GN, editors. *Biochemistry of some foodborne microbial toxins*. Cambridge: MIT Press. pp. 43–50
20. Espino-Vázquez AN *et al.* (2020). Narnaviruses: novel players in fungal-bacterial symbioses. *ISME J.* 14: 1743-1754
21. Walther G *et al.* (2019). Updates on the taxonomy of Mucorales with an emphasis on clinically important taxa. *J. Fungi.* 5: 106
22. Samson RA *et al.* (2019). *Food and Indoor Fungi* (2nd edition). Utrecht: Westerdijk Fungal Biodiversity Institute
23. Jennessen J *et al.* (2008). Morphological characteristics of sporangiospores of the tempe fungus *Rhizopus oligosporus* differentiate it from other taxa of the *R. microsporus* group. *Mycol. Res.* 112: 547-563
24. Dolatabadi S *et al.* (2014). Diversity and delimitation of *Rhizopus microsporus*. *Fungal Divers.* 64, 145-163
25. Walther G *et al.* (2013). DNA barcoding in Mucorales: an inventory of biodiversity. *Persoonia* 30: 11-47
26. Liu XY *et al.* (2008). Delimitation of *Rhizopus* varieties based on IGS rDNA. *Sydowia* 60: 93-112
27. Abe A *et al.* (2010). A molecular phylogeny-based taxonomy of the genus *Rhizopus*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74: 1325-1331
28. Shurtleff W & Aoyagi A (2020). *History of tempeh and tempeh products (1815-2020): Extensively annotated bibliography and sourcebook*. Lafayette, CA: Soyinfo Center
29. Jennessen J *et al.* (2005). Secondary metabolite and mycotoxin production by the *Rhizopus microsporus* group. *J. Agric. Food Chem.* 53: 1833-1840
30. Rusmin S & Ko SD (1974). Rice-grown *Rhizopus oligosporus* inoculum for tempeh fermentation. *Appl. Microbiol.* 28: 347-350
31. Liu XY *et al.* (2007). Molecular phylogenetic relationships within *Rhizopus* based on combined analyses of ITS rDNA and pyrG gene sequences. *Sydowia* 59: 235e253
32. Moebius N *et al.* (2012). Biosynthesis of the respiratory toxin bongkreks acid in the pathogenic bacterium *Burkholderia gladioli*. *Chem. Biol.* 19: 1164-1174
33. Anwar M *et al.* (2017). Bongkreks acid—a review of a lesser-known mitochondrial toxin. *J. Med. Toxicol.* 13: 173-179
34. Lynch KH & Dennis JJ (2009). *Burkholderia*. In: Liu D, editor. *Molecular detection of foodborne pathogens*. Boca Raton: CRC Press; 2009. p. 331–343
35. Garcia RA *et al.* (1999). The effect of lipids on bongkreks (bongkreks) acid toxin production by *Burkholderia cocovenenans* in coconut media. *Food Addit. Contam.* 16: 63–69
36. Ribeiro LC *et al.* (2012). Mucormycosis in Mato Grosso, Brazil: a case reports, caused by *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* and *Rhizopus microsporus* var. *rhizopodiformis*. *Mycopathologia* 173: 187-192
37. Täger FM *et al.* (2012). Mucormycosis cutánea en un paciente inmunocomprometido [Cutaneous mucormycosis in an immunocompromised patient]. *Rev. Chilena Infectol.* 29: 101-107

38. Tintelnot K & Nitsche B (1989). *Rhizopus oligosporus* as a cause of mucormycosis in man. *Mycoses* 32: 115-118
39. COGEM (2021). Advies actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van schimmels. COGEM advies CGM/211004-01
40. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA) – Technical rule for biological agents. https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-460.pdf?__blob=publicationFile (bezoekt: 14-8-2023)
41. Public Health Agency of Canada <https://health.canada.ca/en/epathogen> (bezoekt op 14-8-2023)
42. Belgian Biosafety Server. <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> (bezoekt op 14-8-2023)
43. Federal Office for the Environment. Classification of Organisms, part 4: Fungi. Status November 2004. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezoekt op 14-8-2023)
44. American Type Culture Collection – *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* <https://www.atcc.org/products/64063> (bezoekt op 18-09-2023)