

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

**DATUM** 04 december 2023  
**KENMERK** CGM/231204-01  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie van de schimmel *Penicillium discolor*

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een verzoek van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) om de schimmelsoort *Penicillium discolor* op Bijlage 2, lijst A1 te plaatsen (23-175\_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

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

*P. discolor* is in 1997 voor het eerst geïsoleerd en komt voor op noten, groentes en harde kazen. De schimmelsoort wordt geassocieerd met bederf van deze voedselproducten. *P. discolor* produceert verscheidene secundaire metabolieten waaronder mycotoxines (chaetoglobosin A en C). Bij de COGEM zijn geen gevallen van ziekte in mens en dier bekend die door *P. discolor* veroorzaakt worden. Ook zijn er bij de COGEM geen aanwijzingen dat *P. discolor* pathogeen is voor planten.

De COGEM adviseert *P. discolor* 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

# Pathogeniteitsclassificatie van de schimmelsoort *Penicillium discolor*

## COGEM advies CGM/231204-01

### 1. Inleiding

Naar aanleiding van een verzoek van de Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Penicillium discolor* (IG 23-175). Ook is de COGEM gevraagd te adviseren over plaatsing van deze schimmelsoort op Bijlage 2, lijst A1 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup> 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 ggo<sup>1</sup> geplaatst worden.

### 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.<sup>2</sup> Het nomenclatuursysteem van schimmels bevindt zich nog steeds in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

### 4. Het genus *Penicillium*

Het genus *Penicillium* behoort tot de familie *Aspergillaceae* en de orde *Eurotiales*<sup>3</sup>. Soorten behorende tot het geslacht *Penicillium* zijn filamenteuze schimmelsoorten. *Penicillium*soorten worden gevonden in voedselrijke habitats zoals op (rottend) plantmateriaal en voedselproducten, maar ze worden ook in de grond of in de lucht gevonden.<sup>4,5</sup>

*Penicillium*soorten worden vaak gekenmerkt door het produceren van grote hoeveelheden metabolieten waaronder mycotoxines.<sup>4</sup> Daarnaast staan *penicillium*soorten bekend om zowel hun rol in voedselbederf als om hun toepassingen in de industrie, voor bijvoorbeeld voedselproductie of als bron voor antibiotica.<sup>4,5</sup> *Penicillium*soorten produceren aseksuele sporen (conidia) die zich makkelijk door de lucht kunnen verspreiden.<sup>4</sup> Van sommige *penicillium*soorten is ook het geslachtelijke (teleomorfe) stadium beschreven.<sup>6</sup>

#### 4.1 De soort *Penicillium discolor*

*Penicillium discolor* (Frisvad & Samson, 1997, voorheen ook bekend als *Penicillium echinulatum* var. *echinulatum*; *Penicillium echinulatum* var. *discolor*) is voor het eerst beschreven in 1997.<sup>3,7,8</sup> De schimmelsoort wordt gekenmerkt door ruwe, donkergroene conidia en het vormen van synnemata op moutagar. Daarnaast produceert de schimmel verscheidene secundaire metabolieten: chaetoglobosins, palitantin, cyclopenin, cyclophenol, cyclopeptin, dehydrocyclopeptin, viridicatin, en viridicatol.<sup>7</sup> Ook produceert *P. discolor* de vluchtige stoffen geosmine en 2-methyl-isoborneol, die bekend staan om het veroorzaken van een muffe schimmelige geur.<sup>7</sup> De schimmel heeft voorkeur voor een habitat met hoge eiwit- en vetgehaltes en groeit goed op een voedingsbodem van 'creatine sucrose agar'.<sup>7</sup> Frisvad *et al.*

beschrijven dat geen groei wordt waargenomen bij 37°C op diverse media onder laboratoriumcondities.<sup>7</sup> De schimmelsoort is gevoelig voor organische zuren, zoals melkzuur en azijnzuur.<sup>9</sup>

De soort *P. discolor* is onder andere geïsoleerd uit verscheidene noten en groentes, en wordt aangetroffen in kaaspakhuizen op de coating van harde kazen.<sup>7,10</sup> De schimmel kan groeien in de aanwezigheid van natamycine, een natuurlijke conserveermiddel dat in harde coatings van kazen wordt gebruikt in de kaasindustrie.<sup>10</sup> In kaaspakhuizen kan besmetting van kazen met schimmels zowel via de lucht als via besmette houten planken plaatsvinden.<sup>10</sup> Ook wordt de schimmelsoort gevonden in ondergrondse plantendelen, zoals van uien, aardpeer of radijzen. De schimmelsoort *P. discolor* is verantwoordelijk voor het voedselbederf van kazen en noten, zoals kastanjes.<sup>7,11,12</sup>

Van bepaalde penicilliumsoorten is bekend dat ze beschadigde uienbollen kunnen infecteren, bijvoorbeeld na afsterving van het loof of bij naogstschade.<sup>13</sup> In sommige gevallen infecteren penicilliumsoorten ook niet-beschadigde bollen van uien.<sup>13</sup> Voor *P. discolor* is beschreven dat onder experimentele condities, waarbij beschadigde kastanjes geïnoculeerd werden met sporen van *P. discolor*, schade aan de kastanjes optrad.<sup>11</sup>

*P. discolor* produceert mycototoxines, voornamelijk chaetoglobosin A en C (ChA en ChC).<sup>7</sup> ChA en in minder mate ChC worden in verband gebracht met toxiciteit onder experimentele omstandigheden. Blootstelling aan chaetoglobosins leidt tot cytotoxiciteit in humane cellijnen.<sup>14,15</sup> Daarnaast leidt subcutane injectie van chaetoglobosin A tot acute toxiciteit in muizen en ratten.<sup>12,15</sup>

In de wetenschappelijke literatuur is beschreven dat *P. discolor* op de groeimedia 'czapek yeast agar' en 'yeast sucrose agar' chaetoglobosins produceert.<sup>7</sup> Op deze voedingsbodem is chaetoglobosin A de belangrijkste metabooliet binnen de chaetoglobosins. Er zijn geen duidelijke aanwijzingen of deze secundaire metaboolieten geproduceerd worden op noten, groenten of kazen.<sup>7</sup> In één studie wordt echter aangegeven dat na de experimentele infectie van beschadigde kastanjes wel secundaire metaboolieten en ChA zijn aangetroffen.<sup>11</sup> Penicilliumtoxines, waaronder patulin, cyclopenin, cyclopolenol en ChA kunnen daarnaast gevonden worden in kastanjes na 6 maanden van opslag.<sup>11</sup>

Van de secundaire metaboolieten cyclopolenin en cyclopolenol is bekend dat ze onder laboratoriumcondities fytotoxische eigenschappen bezitten.<sup>16</sup> Daarnaast is cyclopolenol ook toxisch na toediening bij kuikens van één dag oud, waarna deze kuikens de volgende dag herstellen.<sup>16</sup> Ook zijn insecticidale eigenschappen bekend van cyclopolenol: in de insecten *Drosophila melanogaster* en *Spodoptera littoralis* inhibeert gezuiverde cyclopolenol het voeden.<sup>17</sup> Blootstelling aan het secundaire metabooliet patulin via ingestie kan bij mensen en dieren tot toxiciteit leiden.<sup>18</sup> De grootste bron van patulineproductie is de schimmelsoort *Penicillium expansum*, die veelal op fruit voorkomt.<sup>18</sup> Het is in de wetenschappelijke literatuur echter onbekend in welke mate *P. discolor* de bovengenoemde secundaire metaboolieten produceert.

## 5. Eerder COGEM advies

*P. discolor* is eerder in een COGEM publicatie aangemerkt als een toxine producerende schimmel.<sup>19</sup> De pathogeniteitsklasse van *P. discolor* is nog niet eerder door de COGEM vastgesteld. In de meest recente

pathogeniteitsclassificatielijst van de COGEM zijn een aantal *Penicillium*soorten ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1, waaronder soorten waarbij toxineproductie is vastgesteld.<sup>20</sup> In deze lijst staat *Talaromyces marneffeii* (anamorfe naam: *Penicillium marneffeii*) ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, deze schimmel veroorzaakt allergische reacties bij de mens.

## 6. Classificatie door andere organisaties

Zover bekend bij de COGEM is *P. discolor* niet geclassificeerd door buitenlandse instanties zoals de ‘Belgian Biosafety Server’,<sup>21</sup> de American Type Culture Collection (ATCC),<sup>22</sup> of de ‘Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen’ (DSMZ).<sup>23</sup> De schimmelsoort is niet vermeld in de Atlas of Clinical Fungi, het naslagwerk voor klinische relevante schimmels.<sup>4</sup> De inschaling door buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

## 7. Overweging en advies

*P. discolor* is een schimmel die voorkomt op noten, planten en harde kazen. De schimmelsoort wordt al lange tijd aangetroffen in de voedselverwerkende industrie.<sup>7,10</sup> *P. discolor* kan onder laboratoriumcondities de mycotoxines waaronder chaetoglobosin A en C (ChA en ChC) produceren.<sup>7,11</sup> De COGEM heeft geen aanwijzingen gevonden voor pathogeniteit voor mens en dier. Voor *P. discolor* is geen groei bij 37°C bekend waardoor pathogeniteit voor warmbloedige dieren onwaarschijnlijk is. De schimmelsoort *P. discolor* staat daarnaast niet vermeld in de Atlas of Clinical Fungi, het naslagwerk voor klinische relevante schimmels.<sup>4</sup>

*P. discolor* wordt aangetroffen op ondergrondse plantenonderdelen zoals van uien, aardpeer of radijzen. Bij de COGEM zijn geen aanwijzingen bekend dat *P. discolor* pathogeen is voor planten. *P. discolor* staat bekend als voedselbederfschimmel voor kazen en noten. De schimmelsoort komt voor als bewaarziekte bij noten.<sup>12</sup> Veroorzakers van bewaarziekten die afgerijpt plantmateriaal aantasten worden als opportunistische pathogenen door de COGEM als apathogeen aangemerkt.<sup>24</sup>

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *P. discolor* apathogeen is. De COGEM adviseert daarom *P. discolor* in te delen in pathogeniteitsklasse 1, en deze op te nemen in Bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo, met de opmerking dat het een toxine producerende schimmel is.

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-10-01> (bezocht op 27 november 2023)
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. *Penicillium discolor* [www.mycobank.org](http://www.mycobank.org) (bezocht op 28-11-2023)
4. De Hoog GS & Guarro J (1995). Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor schimmelcultures.

5. Visagie CM *et al.* (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud. Mycol.* 78: 343–371.
6. Dyer PS *et al.* (2011). A fungal sexual revolution: *Aspergillus* and *Penicillium* show the way. *Curr. Op. Microbiol.* 14: 649-654
7. Frisvad JC *et al.* (1997). *Penicillium discolor*, a new species from cheese, nuts and vegetables. *Antonie van Leeuwenhoek* 72: 119-126
8. Nederlands Soortenregister. Overzicht van de Nederlandse Biodiversiteit. *Penicillium discolor*.
9. Cabo ML *et al.* (2002). Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium. *J. Food Prot.* 65: 1309-1316.
10. Stark J (2007). Cheese and fermented sausages. *Mycology Series* 25: 319
11. Prencipe S *et al.* (2018). Several species of *Penicillium* isolated from chestnut flour processing are pathogenic on fresh chestnuts and produce mycotoxins. *Food microbiol.* 76: 396-404.
12. Overy DP *et al.* (2003). Spoilage fungi and their mycotoxins in commercially marketed chestnuts. *Int. J. Food Microbiol.* 88: 69-77.
13. Schwartz HF & Krishna M (2008). Compendium of onion and garlic diseases and pests. APS Press, St. Paul MN
14. Sekita S *et al.* (1982). Chaetoglobosins, cytotoxic 10-(indol-3-yl)-[13]cytochalasans from *Chaetomium* spp. I. Production, isolation and some cytological effects of chaetoglobosins A-J. *Chem. Pharm. Bull.* 30: 1609-17
15. Umeda M *et al.* (1975). Cytotoxicity of new cytochalasans from *Chaetomium globosum*. *Experientia* 31: 435–438
16. Cutler HG *et al.* (1984). The biological properties of cyclopenin and cyclophenol. *Plant Cell Physiol.* 25: 257-263
17. Paterson RRM *et al.* (1987). Mycopedicidal effects of characterized extracts of *Penicillium* isolates and purified secondary metabolites (including mycotoxins) on *Drosophila melanogaster* and *Spodoptera littoralis*. *J. Invertebr. Pathol.* 50: 124-133
18. Bacha SAS *et al.* (2023). Comprehensive review on patulin and Alternaria toxins in fruit and derived products. *Front. Plant Sci.* 14: 1139757
19. COGEM (2011). Classificatie humaan- en dierpathogene fungi. COGEM onderzoeksrapport CGM 2011-08
20. COGEM (2023). Advies actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van schimmels. COGEM advies CGM/230828-03
21. Belgian Biosafety Server. <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> (bezoekt op 22-11-2023)
22. American Type Culture Collection. <https://www.atcc.org/> (bezoekt op 22-11-2023)
23. Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen. <https://www.dsmz.de/collection/catalogue/microorganisms/catalogue> (bezoekt op 22-11-2023)
24. COGEM (2015). Adviserende en signalerende aanbiedingsbrief bij rapport 'Screening of the COGEM lists of non-pathogenic bacteria and fungi for postharvest diseases and plant pathogens'. COGEM aanbiedingsbrief CGM/151126-01