

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

DATUM 13 maart 2024
KENMERK CGM/240313-01
ONDERWERP Advies heroverweging pathogeniteitsklasse *Debaryomyces hansenii*

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag over dossier IG 24-020_2.13-000, betreffende het plaatsen van de schimmelsoort *Debaryomyces hansenii* op bijlage 2 lijst A1 van de Regeling ggo, ingediend door de Stichting Amsterdam UMC, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

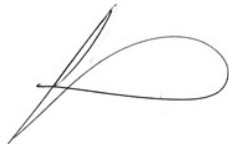
De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Debaryomyces hansenii* en de plaatsing van deze soort op bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ggo. De COGEM heeft *D. hansenii* in 2011 ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1, en wordt naar aanleiding van nieuwe informatie gevraagd of de pathogeniteitsklasse herzien moet worden.

D. hansenii is een gist en is geassocieerd met gefermenteerde voedingsproducten, zoals kaas, yoghurt, wijn en bier. Ook komt *D. hansenii* voor in de bodem en is het de meest voorkomende gist in zeewater. De gist kan toxines produceren die de groei van andere gisten tegengaat. Het blootstellen van planten aan *D. hansenii* zou de afweer tegen plantpathogene schimmels kunnen versterken. *D. hansenii* wordt ook in verband gebracht met klinische infecties bij mensen, al lijkt het in veel gevallen om misidentificatie te gaan. De gist is in verband gebracht met de ziekte van Crohn, een ontsteking in de darmen. De betreffende studie toont aan dat *D. hansenii* een rol kan spelen bij het slechter herstellen van de beschadigde darmen, maar de COGEM acht het niet bewezen dat *D. hansenii* de veroorzaker is van de ziekte van Crohn.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *D. hansenii* als opportunistisch pathogeen kan worden beschouwd. De COGEM blijft daarom bij haar advies om *D. hansenii* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Zij adviseert deze soort 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

Heroverweging van de pathogeniteitsklasse van de gistsoort *Debaryomyces hansenii*

COGEM advies CGM/240313-01

1. Inleiding

De COGEM is naar aanleiding van een verzoek van de Stichting Amsterdam UMC (IG 24-020) gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de schimmelsoort *Debaryomyces hansenii* en de plaatsing van deze soort op bijlage 2, lijst A1 van de Regeling ‘genetisch gemodificeerde organismen’ (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).

De COGEM heeft *D. hansenii* in 2011 ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1 en daarna als zodanig opgenomen in de daaropvolgende actualisaties.^{2,3} Omdat er bij deze vergunningaanvraag informatie is aangeleverd over mogelijke betrokkenheid van *D. hansenii* bij de ziekte van Crohn, is de COGEM gevraagd of dit aanleiding geeft om de pathogeniteitsklasse te herzien.

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 geplaatst worden.¹

3. Taxonomie en naamgeving

Gisten behoren tot het rijk van de schimmels (Fungi). Gisten planten zich doorgaans ongeslachtelijk voort en zijn in het giststadium ééncellig. Sommige gistsoorten kunnen zich onder bepaalde omstandigheden ook geslachtelijk via asco- of basidiosporen voortplanten. Omdat de geslachtelijke (teleomorfe) en ongeslachtelijke (anamorfe) stadia er verschillend uitzien, hebben deze gisten 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 komt te vervallen en dat vanaf januari 2013 één schimmel slechts één naam mag hebben.⁴ Het nomenclatuursysteem van schimmels bevindt zich nog steeds in een overgangssituatie waarbij de nieuwe naamgeving nog niet altijd consistent is doorgevoerd.

4. De schimmelsoort *Debaryomyces hansenii*

4.1 Algemene eigenschappen van *Debaryomyces hansenii*

Debaryomyces hansenii (anamorf: *Candida famata*) is een haploïde gist die zich vermeerderd door het afsnoeren van nieuwe cellen ofwel ‘budding’. *D. hansenii* is geassocieerd met gefermenteerde voedingsproducten zoals verschillende soorten kaas, zuivelproducten zoals kefir en yoghurt, vlees, wijn en bier. Ook wordt *D. hansenii* geïsoleerd uit de bodem en is het de meest voorkomende ascomycete gist in zeewater. De gist is osmotolerant, wat betekent dat hij kan groeien bij hoge concentraties zout (tot 4 M NaCl, ~10% w/w) en glycerol (tot 18 %).⁵ De gist groeit bij het beste bij temperaturen tussen de 20 en 25 °C, al is groei ook gerapporteerd bij lagere temperaturen.⁵ *D. hansenii* bezit het vermogen om veel lipiden te produceren, tot 70% van het drooggewicht. Vanwege bovenstaande eigenschappen, en zijn vermogen om ‘yeast killer toxines’ te produceren die de groei van andere gisten tegengaat, is *D. hansenii* interessant voor de biotechnologie.⁵

4.2 Mogelijk pathogene eigenschappen van *Debaryomyces hansenii*

D. hansenii wordt genoemd als veroorzaker van het bederven van in pekel geconserveerde voedingsmiddelen, zoals augurken.⁵ Veel publicaties benadrukken juist het potentieel van *D. hansenii* als ‘bioprotectant’ tegen schimmelpathogenen. Zo zou blootstelling aan *D. hansenii* de afweer van planten kunnen versterken.⁶ Ook wordt er onderzoek verricht naar het gebruik van *D. hansenii* als probioticum voor dieren.⁷ *D. hansenii* zou het immuunsysteem in muizen kunnen versterken.⁷

De gist wordt in het algemeen als apathogeen beschouwd.⁵ Er zijn echter publicaties waarin *D. hansenii* geassocieerd is met humane infecties.^{8,9,10,11,12} In 0,08 tot 0,5% van de gevallen met invasieve candidiases (infecties met *Candida*-schimmels) zou het gaan om infecties met *D. hansenii*.¹³ Wanneer isolaten fenotypisch gekarakteriseerd worden, vindt echter in veel gevallen misidentificatie plaats, en gaat het in werkelijkheid om andere gist-soorten (*Pichia guilliermondii*, *Pichia caribbica*, *Pichia jadinii*, *Candida palmioleophila*, *Candida haemulonii* type II en *Clavispora lusitaniae*) of de verwante soort *Debaryomyces subglobulosus*.¹⁴ De meeste gerapporteerde klinische infecties worden waarschijnlijk veroorzaakt door de verwante soort *D. subglobulosus*.¹⁵

In 2021 is er een publicatie verschenen waarin gevonden is dat *D. hansenii* voornamelijk aanwezig is in onvolledig genezen wonden in de dikke darmen van muizen en bij ontstoken slijmvliesweefsel van patiënten met de ziekte van Crohn.¹⁶ Wanneer *D. hansenii* culturen geïsoleerd uit de muizen of weefsels van Crohn-patiënten in gewonde muizen werden gebracht, verminderde de wondgenezing. Uit deze laatste wonden kon opnieuw *D. hansenii* geïsoleerd worden. De auteurs stellen hiermee te voldoen aan de postulaten van Koch die uitmaken of er een oorzakelijk verband is tussen ziektekiem en ziekte. Bij het belemmeren van de wondgenezing door *D. hansenii* zijn myeloïde-celspecifieke type 1 interferon en CCL5 betrokken.

5. Eerder COGEM advies en classificatie door andere instanties

De COGEM heeft *D. hansenii* in 2011 ingedeeld in pathogeniteitsklasse 1, naar aanleiding van een onderzoeksrapport.^{2,17} Het Westerdijk Fungal Biodiversity Institute classificeert een aantal *D. hansenii* stammen – geïsoleerd uit onder andere kazen, (diep)zeewater en de bodem – op ‘biosafetylevel’ 1. Bij deze classificatie is alleen pathogeniteit voor de mens beoordeeld. *D. hansenii* is ook beoordeeld door buitenlandse instanties. Zo delen het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) en het Zwitserse ‘Bundesamt für Umwelt’ (BAFU) de soort *D. hansenii* in risicogroep 1 in.^{18,19} En het ‘American Type Culture Collection’ (ATCC) schaaft *D. hansenii* in als ‘risk group’ (RG-) 1 organisme.²⁰ De schimmelsoort staat als RG-1 organisme vermeld in de Atlas of Clinical Fungi, het naslagwerk voor klinische relevante schimmels.¹⁵ *D. hansenii* staat niet vermeld als plantpathogeen in ‘online databases’ met informatie over schimmelsoorten die ziekten bij planten veroorzaken.^{21,22,23,24}

De inschaling door deze instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en advies

D. hansenii is een osmotolerante gist die aangetroffen kan worden in zeewater en gefermenteerde voedingsmiddelen zoals kaas, yoghurt, wijn en bier. Vanwege de eigenschap van *D. hansenii* om in bijzondere omstandigheden te kunnen groeien, en zijn vermogen om de groei van andere gisten tegen te gaan, wordt de gist interessant bevonden voor de biotechnologie. Daarnaast zou de gist als ‘bioprotectant’ voor planten gebruikt kunnen worden.

D. hansenii wordt ook geassocieerd met klinische infecties. Een oorzakelijk verband tussen *D. hansenii* en de gerapporteerde ziekten wordt niet duidelijk aangetoond. Ook lijkt het in veel gevallen om misidentificatie te gaan.^{14,15} In een aantal ‘case reports’ is *D. hansenii* alleen op basis van morfologie geïdentificeerd.^{11,12} *D. hansenii* komt veel voor in voedingsmiddelen en lijkt vrij algemeen aanwezig in het milieu.^{5,25} Desondanks wordt *D. hansenii* nauwelijks teruggevonden bij patiënten. De gist is door onderzoekers in verband gebracht met de ziekte van Crohn.¹⁶ Bij een ontsteking in de darmen – zoals bij de ziekte van Crohn – is er meestal een ontregeling van het microbioom.²⁶ Hierdoor zijn oorzaak en gevolg moeilijk van elkaar te onderscheiden. *D. hansenii* kan een rol spelen bij het slechter helen van het beschadigde darmepitheel, maar de COGEM acht het niet bewezen dat *D. hansenii* de veroorzaker is van de ziekte van Crohn. Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *D. hansenii* als opportunistisch pathogeen kan worden beschouwd.

Concluderend, is de COGEM van oordeel dat *D. hansenii* ten hoogste een opportunistisch pathogeen is en blijft daarom bij haar advies om *D. hansenii* in te delen in pathogeniteitsklasse 1. Zij adviseert deze soort 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/BWBR0035072/2024-01-01> (bezocht op 01-03-2024)
2. COGEM (2011). Classificatie apathogene schimmels. COGEM advies CGM/111024-02
3. COGEM (2023). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met apathogene en pathogene schimmelsoorten. COGEM advies CGM/230828-03
4. 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
5. Breuer U & Harms H (2006). *Debaryomyces hansenii* - an extremophilic yeast with biotechnological potential. *Yeast* 23: 415-437
6. Czarnecka M *et al.* (2019). Role of biocontrol yeasts *Debaryomyces hansenii* and *Wickerhamomyces anomalus* in plants' defence mechanisms against *Monilinia fructicola* in apple fruits. *Food microbiol.* 83: 1-8
7. Angulo M *et al.* (2020). Probiotic and nutritional effects of *Debaryomyces hansenii* on animals. *Appl. Microbiol. Biotech.* 104: 7689-7699
8. Karapetsa M *et al.* (2019). Septic shock due to *Candida famata* (*Debaryomyces hansenii*) candidemia in an ICU immunocompetent trauma-patient. *J. Infect. Public Health* 12: 594-597

9. Badiie P *et al.* (2022). Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from 10 tertiary care hospitals in Iran. *Microbiol. Spectr.* 10: e0245322
10. Mar JS *et al.* (2016). Disease severity and immune activity relate to distinct interkingdom gut microbiome states in ethnically distinct ulcerative colitis patients. *mBio* 7: e01072-16
11. Wong B *et al.* (1982). Bone infection caused by *Debaryomyces hansenii* in a normal host: a case report. *J. Clin. Microbiol.* 16: 545-548
12. Yamamoto Y *et al.* (2002). Extrinsic allergic alveolitis induced by the yeast *Debaryomyces hansenii*. *Eur. Respir. J.* 20: 1351-1353
13. Pfaller MA & Diekema DJ (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.* 20: 133-163
14. Desnos-Ollivier M *et al.* (2008). *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), a rare human fungal pathogen often misidentified as *Pichia guilliermondii* (*Candida guilliermondii*). *J. Clin. Microbiol.* 46: 3237-3242
15. De Hoog GS & Guarro J (1995). Atlas of clinical fungi. Centraal Bureau voor Schimmelcultures. 4th edition
16. Jain U *et al.* (2021). *Debaryomyces* is enriched in Crohn's disease intestinal tissue and impairs healing in mice. *Science* 371: 1154-1159
17. Boekhout T. (2011). Classificatie humaan- en dierpathogene fungi. COGEM onderzoeksrapport CGM/2011-08
18. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin' (BAUA). TRBA 460 Einstufung von Pilzen in Risikogruppen <https://www.baua.de/DE/Angebote/Regelwerk/TRBA/TRBA-460.html> (bezocht op 01-03-2024)
19. Bundesamt für Umwelt (BAFU) <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezocht op 01-03-2024)
20. American Type Culture Collection (ATCC) <https://www.atcc.org/> (bezocht op 01-03-2024)
21. USDA ARS Fungal database. <https://fungi.ars.usda.gov/> (bezocht op 01-03-2024)
22. American Phytopathological Society (APS). <https://www.apsnet.org/Pages/default.aspx> (bezocht op 01-03-2024)
23. The EPPO Q-Bank Database on quarantine pests. <https://qbank.eppo.int/> (bezocht op 01-03-2024)
24. Plant-Host Interactions, www.phi-base.org/searchFacet.htm?queryTerm (bezocht op 01-03-2024)
25. Liu Y *et al.* (2023). Microbial diversity and potential health risks of household municipal solid waste in China: A case study in winter during outbreak of COVID-19. *Sci. Total Environ.* 904: 166672
26. Libertucci J *et al.* (2018). Inflammation-related differences in mucosa-associated microbiota and intestinal barrier function in colonic Crohn's disease. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 315: G420-431