

**Empfehlung der ZKBS zur Risikobewertung von
Thermothelomyces thermophilus
und Produktionsstämmen, die auf dem Stamm
Thermothelomyces thermophilus HC basieren,
als Spender- oder Empfängerorganismen
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

Allgemeines

Thermothelomyces thermophilus (früher: *Myceliophthora thermophila*, *Sporotrichum thermophile*, *Chrysosporium thermophilum*, *Corynascus thermophilum*) ist ein Ascomycet aus der Familie der *Chaetomiaceae*. Namensgebend ist seine hohe Thermotoleranz, die sich in einem Wachstumsoptimum von 25 °C bis 48 °C äußert, wobei der Pilz bei bis zu 55 °C wachsen kann [1]. Er ist weltweit verbreitet und kann aus Abwasser, Boden, Kompost, Holzschnitzeln und Rückständen der Zuckerproduktion aus Zuckerrohr isoliert werden [1–5].

Darüber hinaus wurde *T. thermophilus* als Erreger von zwölf Erkrankungsfällen von Menschen identifiziert [6–13]. Bei den Erkrankten handelte es sich um fünf immunsupprimierte und sieben immunkompetente Patienten. Bei Immunsupprimierten traten disseminierte Infektionen bzw. Infektionen der Lunge auf, während die Infektionen bei Immunkompetenten nach Operationen oder Traumata wie einer Verletzung mit einer Mistgabel auftraten und auf die betroffenen Bereiche beschränkt waren [13]. Die Infektionen verliefen z. T. tödlich, wobei es sich bei den verstorbenen Patienten um zwei immunsupprimierte Patienten mit malignen Erkrankungen und eine Patientin nach einer Operation eines Aortenaneurysmas handelte. Die untersuchten Isolate waren suszeptibel gegenüber den Antimykotika Itraconazol, Voriconazol und Posaconazol und weniger empfindlich gegenüber Caspofungin und Micafungin. Die Suszeptibilität gegenüber Amphotericin B fiel unterschiedlich aus [13].

In den Technischen Regeln für Biologische Arbeitsstoffe 460 Einstufung von Pilzen in Risikogruppen wird *T. thermophilus* (noch als *Myceliophthora thermophila*) der Risikogruppe 1 zugeordnet [14].

Der Stamm *T. thermophilus* C1 wurde im Osten Russlands aus Waldboden isoliert und zunächst als Isolat von *Chrysosporium lucknowense* identifiziert. Er wächst in einem Temperaturbereich von 25 °C bis 44 °C [15]. Der Stamm wurde durch UV-induzierte und chemische Mutagenese für die industrielle Produktion von Enzymen in Submerskultur optimiert. So wurde der Stamm *T. thermophilus* HC erzeugt, der sich gegenüber dem Wildstamm *T. thermophilus* C1 dadurch auszeichnet, dass er eine veränderte, fragmentierte Hyphenstruktur aufweist und daher Flüssigkulturen von *T. thermophilus* HC eine geringere Viskosität haben. Die Verfügbarkeit von Nährstoffen und die Produktion von Biomasse sind daher stark verbessert. Zudem ist die Sekretion von Enzymen stark erhöht, da diese v. a. an den Hyphenspitzen erfolgt und aufgrund der fragmentierten Hyphenmorphologie der Anteil der Hyphenspitzen im Myzel

deutlich größer ist. Derivate von *T. thermophilus* HC werden seit den 90er Jahren des 20. Jahrhunderts für die Produktion verschiedener thermostabiler Enzyme für Waschmittel sowie in der Biokraftstoffindustrie und Lebensmittelproduktion in großtechnischem Maßstab (bis zu 150.000 l) genutzt [16, 17]. Bei einigen der Produktionsstämme wurde zudem nach UV-Mutagenese auf Protease-defiziente Stämme selektioniert und das Gen *alp1* für eine extrazelluläre Protease deletiert, um den Abbau von sezernierten Enzymen zu begrenzen [17]. Zellulase-Präparationen, die mit dem von *T. thermophilus* HC abgeleiteten Stamm *T. thermophilus* UV18-25[PCBHEG5]27 produziert werden, sind als Lebensmittelzusatzstoff von der *Food and Drug Administration* der USA (FDA) zugelassen. Ihnen wurde von der FDA der GRAS-Status (*generally recognized as safe*) als unbedenklicher Lebensmittelzusatzstoff zuerkannt [18]. Hierfür wurde eine mögliche Pathogenität des Stammes im Tierversuch untersucht: Die intra-peritoneale Verabreichung an Mäuse führte zu lokalen Abwehrreaktionen in der Bauchhöhle aller Versuchstiere (Bildung von lokalen Abszessen und Verkapselungen der Erreger). Nach 14 Tagen konnten aus dem Großteil der Tiere keine lebenden *T. thermophilus* UV18-25[PCBHEG5]27 mehr isoliert werden. Alle Tiere waren klinisch unauffällig und hielten ihr Körpergewicht [19].

Empfehlung

Nach § 5 Absatz 1 GenTSV i. V. m. den Kriterien im Anhang I GenTSV wird *Thermothelomyces thermophilus* als Spender- und Empfängerorganismus für gentechnische Arbeiten der **Risikogruppe 2** zugeordnet. *Thermothelomyces thermophilus* HC und von diesem Stamm abgeleitete Produktionsstämme werden der **Risikogruppe 1** zugeordnet.

Begründung

Bei Wildstämmen von *T. thermophilus* handelt es sich um Hyphenpilze, die sehr selten als opportunistische Krankheitserreger auch bei Immunkompetenten in Erscheinung treten können.

Produktionsstämme, die von *T. thermophilus* HC abgeleitet sind, werden dagegen schon seit zwei Jahrzehnten in großtechnischem Maßstab verwendet, ohne dass es dabei zu Infektionen von Beschäftigten gekommen ist. Gegebenenfalls führt die anormale Hyphenmorphologie der Stämme zu einer Attenuierung. Ein Tierversuch an Mäusen deutet ebenfalls darauf hin, dass von *T. thermophilus* HC abgeleitete Stämme apathogen sind.

Literatur

1. **Singh B** (2016). *Myceliophthora thermophila* syn. *Sporotrichum thermophile*: a thermophilic mould of biotechnological potential. *Crit Rev Biotechnol* **36**(1):59–69.
2. **Moretti MMS, Bocchini-Martins DA, Silva RD, Rodrigues A, Sette LD, Gomes E** (2012). Selection of thermophilic and thermotolerant fungi for the production of cellulases and xylanases under solid-state fermentation. *Braz J Microbiol* **43**(3):1062–71.
3. **Semeniuk G, Carmichael JW** (1966). *Sporotrichum thermophile* in North America. *Can J Bot* **44**(1):105–8.
4. **Hedger JN, Hudson HJ** (1970). *Thielavia thermophila* and *Sporotrichum thermophile*. *Trans Brit Mycol Soc* **54**(3):497–500.
5. **Klopotek Av** (1974). Revision der thermophilen *Sporotrichum*-Arten: *Chrysosporium thermophilum* (Apinis) comb. nov. und *Chrysosporium fergusii* spec. nov. = status conidialis von *Corynascus thermophilus* (Fergus und Sinden) comb. nov. *Arch Microbiol* **98**:365–9.

6. **Bourbeau P, McGough DA, Fraser H, Shah N, Rinaldi MG** (1992). Fatal disseminated infection caused by *Myceliophthora thermophila*, a new agent of mycosis: case history and laboratory characteristics. *J Clin Microbiol* **30**(11):3019–23.
7. **Destino L, Sutton DA, Helon AL, Havens PL, Thometz JG, Willoughby RE, Chusid MJ** (2006). Severe osteomyelitis caused by *Myceliophthora thermophila* after a pitchfork injury. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* **5**:21.
8. **Morio F, Fraissinet F, Gastinne T, Le Pape P, Delaunay J, Sigler L, Gibas CFC, Miegerville M** (2011). Invasive *Myceliophthora thermophila* infection mimicking invasive aspergillosis in a neutropenic patient: a new cause of cross-reactivity with the *Aspergillus* galactomannan serum antigen assay. *Med Mycol* **49**(8):883–6.
9. **Farina C, Gamba A, Tambini R, Beguin H, Trouillet JL** (1998). Fatal aortic *Myceliophthora thermophila* infection in a patient affected by cystic medial necrosis. *Med Mycol* **36**(2):113–8.
10. **Le Naourès C, Bonhomme J, Terzi N, Duhamel C, Galateau-Sallé F** (2011). A fatal case with disseminated *Myceliophthora thermophila* infection in a lymphoma patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* **70**(2):267–9.
11. **Tekkök IH, Higgins MJ, Ventureyra ECG** (1996). Posttraumatic Gas-containing Brain Abscess Caused by *Clostridium perfringens* with Unique Simultaneous Fungal Suppuration by *Myceliophthora thermophila*: Case Report. *Neurosurgery* **39**(6):1247–51.
12. **Weitzel N, Puskas F, Cleveland J, Levi ME, Seres T** (2009). Left ventricular assist device outflow cannula obstruction by the rare environmental fungus *Myceliophthora thermophila*. *Anesth Analg* **108**(1):73–5.
13. **Nourrisson C, Garcia-Hermoso D, Morio F, Kauffmann-Lacroix C, Berrette N, Bonhomme J, Poirier P, Lortholary O** (2017). *Thermotheomyces thermophila* human infections. *Clin Microbiol Infect* **23**(5):338–41.
14. **TRBA** (2016). Einstufung von Pilzen in Risikogruppen (TRBA 460). <http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/TRBA-460.html>. Besucht am 1. März 2019.
15. **Emalfarb MA, Ben-Bassat A, Burlingame RP, Chernoglazov VM, Okunev ON, Olson PT, Sinitsyn AP, Solovjev IV** (1998). Cellulase compositions and methods of use. (United States Patent 5,811,381).
16. **Dyadic** (2016). The C1 Expression System. <https://www.dyadic.com/c1-technology/c1-expression-system/>. Besucht am 23. April 2019.
17. **Visser H, Joosten V, Punt PJ, Gusakov A v., Olson PT, Joosten R, Bartels J, Visser J, Sinitsyn AP, Emalfarb MA, Verdoes JC, Wery J** (2011). Development of a mature fungal technology and production platform for industrial enzymes based on a *Myceliophthora thermophila* isolate, previously known as *Chrysosporium lucknowense* C1. *Ind Biotechnol* **7**(3):214–23.
18. **FDA** (2009). Agency Response Letter GRAS Notice No. GRN 000292. <https://wayback.archive-it.org/7993/20171031013337/https://www.fda.gov/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/ucm185690.htm>. Besucht am 23. April 2019.
19. **Knippels LMJ, Penninks AH, Hartog BJ** (2004). An intraperitoneal pathogenicity and toxigenicity study in mice with a recombinant *Chrysosporium lucknowense* UV18-25[PCBHEG5]27 strain.