

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
Mevrouw drs. S. van Veldhoven-van der Meer
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 27 augustus 2018
KENMERK CGM/180827-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Usutu virus*

Geachte mevrouw Van Veldhoven,

Naar aanleiding van een verzoek van het Biomedical Primate Research Centre om de pathogeniteitsklasse van het *Usutu virus* te bepalen (IG 18-128_2.8-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van het *Usutu virus* (USUV). USUV kan worden overgedragen door muggen en kan sterfte veroorzaken bij bepaalde vogelsoorten. Het virus komt van oorsprong uit Afrika, waar het niet geassocieerd is met vogelsterfte. In het laatste decennium is USUV aangetroffen in veel verschillende Europese landen (waaronder Nederland), waar het sterfte onder merels heeft veroorzaakt.

Ook mensen kunnen door een muggenbeet geïnfecteerd raken met het virus. Infectie bij mensen verloopt meestal asymptomatisch, maar kan in enkele gevallen bij patiënten met een onderliggend ziektebeeld gepaard gaan met hersenontsteking. De vectoren die het virus kunnen overdragen (muggen) komen veel voor in Europa en Nederland. Omdat USUV hoofdzakelijk geassocieerd is met milde ziektegevallen bij mensen en USUV sinds enkele jaren endemisch is grote delen van Europa en ook in Nederland, is de COGEM van oordeel dat het *Usutu virus* ingedeeld kan worden in pathogeniteitsklasse 2 en geplaatst kunnen worden op Bijlage 4, lijst 4.1 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. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Pathogeniteitsclassificatie van het *Usutu virus*

COGEM advies CGM/180827-01

1. Inleiding

In verband met een vergunningaanvraag van Biomedical Primate Research Centre (IG 18-128), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van het *Usutu virus* voor plaatsing op lijst 4.1 van Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit lijsten van micro-organismen die pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Lijst 4.1 betreft de indeling in klassen van pathogene virussen.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie de risico's voor mens en milieu in ogenschouw 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

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. *Usutu virus*

3.1 *Epidemiologie en dierpathogeniteit*

Het *Usutu virus* (USUV) behoort tot de familie van de *Flaviviridae* en het genus *Flavivirus*.² Het virus heeft een positief enkelstrengs RNA genoom van 11 kb. USUV wordt door steekmuggen (voornamelijk *Culex* spp.) overgedragen. De muggen kunnen het virus ook overdragen naar mensen en andere zoogdieren (zoals paarden, knaagdieren en in Duitsland is USUV ook geïsoleerd uit twee vleermuizen³) die beschouwd worden als ‘dead-end’ gastheer. Het virus kan veel verschillende vogelsoorten infecteren, zo zijn USUV antilichamen aangetroffen in 58 vogelsoorten.⁴ Voor bepaalde vogelsoorten kan infectie fataal zijn. De meeste sterftegevallen worden waargenomen bij merels (*Turdus merula*).⁵ USUV heeft een breed weefsel tropisme en is geïsoleerd uit hersen-, hart-, lever-, nier-, maag- en longweefsel van geïnfecteerde vogels. Sterfte wordt dan ook waarschijnlijk veroorzaakt door meervoudig orgaanfalen, of door laesies in de hersenen (als gevolg van encefalitis en neuronale necrose).⁶ Neuropathologie is kenmerkend voor flavivirussen, maar USUV heeft als uniek kenmerk dat het demyelinisatie kan veroorzaken.⁷

Het virus is in 1959 ontdekt in Zuid-Afrika, waar het geïsoleerd is uit muggen en vogels. Het is daar niet geassocieerd met ernstige of fatale ziekte bij vogels.^{6,8,9} In 2001 is USUV geïdentificeerd in weefsels van dode vogels (met name merels (*T. merula*), laplanduilen (*Strix nebulosa*), en boerenzwaluwen (*Hirundo rustica*)) na een massale vogelsterfte in Oostenrijk.⁸ Uit analyses van gearhiveerd weefsel afkomstig van merels die in 1996 in Toscane zijn gestorven, is gebleken dat USUV waarschijnlijk al eerder in Europa circuleerde.⁵ Het virus is later ook geïsoleerd uit vogels en muggen in andere Europese landen, onder andere Italië, Duitsland, Spanje, Hongarije, Zwitserland, België en Engeland.^{5,10,11}

In Duitsland is USUV in 2010 geïsoleerd uit muggen, en in de twee jaren daarna is er een USUV uitbraak geweest waaraan veel merels zijn overleden.¹² Geschat wordt dat er sinds deze periode circa 167.000 vogels aan USUV zijn overleden in Duitsland, en dat de USUV uitbraak verantwoordelijk is voor een populatieafname van 15,7%.¹³ Vervolgens is in 2016 een nieuwe uitbraak in een andere regio van Duitsland ontstaan, en is een USUV epidemie ook gerapporteerd in België, Frankrijk en Nederland.¹⁴ In Nederland is USUV in begin 2016 in gezonde vogels gedetecteerd, en later in 2016 en in 2017 is het virus ook aangetoond in dode vogels.¹⁵ De uitbraak in Nederland betrof voornamelijk merels en laplanduilen (in gevangenschap) en vaak was er ook sprake van co-infectie met *Plasmodium* spp.¹⁶ In begin 2018 zijn er in Nederlandse tuinen circa 15% minder merels gerapporteerd ten opzichte van begin 2016.¹⁷ Het is echter onduidelijk of dit te wijten is aan USUV.

Tien jaar na de uitbraak in Oostenrijk zijn nog steeds antilichamen tegen USUV waargenomen bij vogels, maar is de vogelsterfte sterk afgenomen. Verondersteld wordt dat de vogels een collectieve

immuniteit hebben ontwikkeld.^{18,19} In Duitsland en Italië, waar USUV ook al langere tijd circuleert, lijken echter nog geen aanwijzingen te zijn voor collectieve immuniteit.¹²

3.2 Pathogeniteit bij mensen

Ook mensen kunnen geïnfecteerd raken met USUV. In 1981 is het virus in Afrika voor het eerst geïsoleerd uit een man met koorts en huiduitslag, en later in 2004 bij een kind met koorts en geelzucht.⁹ Ook is het virus tijdens een USUV uitbraak onder wilde vogels in Oostenrijk aangetoond in het bloed van een man met huiduitslag.²⁰

Naast milde klachten zijn er ook enkele gevallen beschreven waarbij ernstigere klachten geassocieerd zijn met USUV infectie. Zo zijn in 2009 in Italië twee gevallen beschreven waarbij USUV geïsoleerd was uit patiënten met ernstige neurologische verschijnselen. In beide gevallen betrof het immuun-gecompromitteerde patiënten; een patiënt met B-cel lymfoom die na een darmoperatie meningoencefalitis ontwikkelde,²¹ en een patiënt die neurologische problemen en functieverlies ontwikkelde na een levertransplantatie.²² In Kroatië zijn antilichamen tegen USUV gedetecteerd in drie patiënten met meningitis en meningoencefalitis tijdens uitbraak van het verwante *West Nile virus* (WNV).²³ In het hersenvocht werd echter geen RNA aangetroffen van flavivirussen. Eén van de patiënten had volgens de auteur geen ziektegeschiedenis, maar had een ernstiger verloop van de ziekte, met langdurige hoofdpijn, en geheugen- en spraakproblemen. De andere twee patiënten hadden een verleden met medische problemen en zijn na 4 tot 8 weken volledig hersteld. In Italië is hersenvocht van patiënten met (meningo)encefalitis retrospectief onderzocht op USUV aanwezigheid, en 8 van de 298 patiënten testten positief op aanwezigheid van het virus. Van vier patiënten waren de medische gegevens bekend, en deze leden allen aan een onderliggende chronische aandoening, zoals leverproblemen, diabetes, of COPD.²⁴ In Frankrijk is een patiënt met atypische neurologische symptomen (gezichtsverlamming) beschreven, waarbij USUV retrospectief in het hersenvocht gedetecteerd is.²⁵ Omdat deze symptomen door een immuunreactie of reactie op infectie kan ontstaan, konden de auteurs niet uitsluiten dat USUV mogelijk de oorzaak is van deze ziektebeelden. De patiënt is later weer hersteld.

Uit seroprevalentie studies en analyses van bloeddonthies blijkt dat er een lage en asymptomatische seroprevalentie is onder de Europese populatie.²⁶ In Oostenrijk zijn 6 van de 12047 monsters afkomstig van bloeddonthies positief getest op USUV, en geen van de bloeddonthies vertoonde klinische symptomen voorafgaand aan of na de bloeddonthies.²⁰ Uit serologisch onderzoek in Italië is gebleken dat 40 van de 609 serummonsters van gezonde en zieke individuen neutraliserende antilichamen bevatten tegen USUV.²⁴ Ook kwam USUV infectie vaker voor dan WNV infectie in die regio. In 2012 zijn 359 bloeddonthiesmonsters getest, en vier monsters afkomstig van gezonde personen bevatten USUV antilichamen.²⁷ In Duitsland bevatte in 2012 één op de 4200 serummonsters USUV antilichamen²⁸ en één op de 13.023 bloeddonthiesmonsters RNA van USUV in 2016²⁹ ten tijde van de USUV uitbraken bij vogels. In beide gevallen was het bloed/serum afkomstig van gezonde personen zonder ziekteverschijnselen.

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over USUV, wel heeft zij verschillende soorten behorende tot het genus *Flavivirus* geïdentificeerd.³⁰ *Dengue virus*, *Japanese encephalitis virus*, *Tick-borne encephalitis virus*, *West Nile virus*, *Yellow fever virus*, en *Zika virus* zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. *Yokose virus* is als strikt dierpathogeen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. Het *Modoc virus* is in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.³¹

5. Classificaties andere beoordelende instanties

Het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft het *Usutu virus* ingedeeld in risicogroep 2 als zoönose, met daarbij de opmerking dat aanvullende maatregelen moeten worden genomen bij het werken met geleedpotigen (natuurlijke vectoren) of bij dierstudies.³²

De ARBO-regelgeving heeft onder meer ten doel werknemers te beschermen tegen de risico's van blootstelling aan biologische agentia. In de Europese ARBO-richtlijn 2000/54/EG staat het *Usutu virus* niet specifiek genoemd, maar worden ‘other flaviviruses known to be pathogenic’ ingedeeld in klasse 2.³³

De classificaties door andere beoordelende instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

6. Overweging en advies

USUV wordt overgedragen door muggen, en vogels vormen het natuurlijke reservoir voor het virus. USUV is in Europa geïsoleerd uit *Culex pipiens*, de meest voorkomende vector in Europa.⁵ Deze mug komt wereldwijd voor, met uitzondering van de koudste klimaten.³⁴ USUV kan veel verschillende vogelsoorten infecteren, maar voor enkele vogelsoorten (met name merels) kan infectie dodelijk zijn. Het virus is oorspronkelijk endemisch in Afrika, maar het heeft zich in het laatste decennium verspreid door Europa en in verschillende landen significante sterfte onder merels veroorzaakt. USUV is tegenwoordig ook endemisch in Nederland. Na de initiële introductie van het virus lijkt de vogelsterfte af te nemen, wat mogelijk een indicatie is van groepsimmunitet. Er zijn ook enkele gevallen beschreven waarbij mensen geïnfecteerd zijn met USUV, waarbij infectie over het algemeen asymptomatisch verloopt. In enkele gevallen is infectie geassocieerd met uitslag en koorts, en in ernstigere gevallen is ook (meningo)encefalitis gerapporteerd. Deze ernstigere gevallen met neurologische problemen zijn vrijwel altijd gerapporteerd bij patiënten die tevens een onderliggend ziektebeeld hadden. In twee gevallen zijn neurologische symptomen gerapporteerd bij personen zonder duidelijk ziektebeeld, maar waarbij geen uitspraak gedaan is over de immunestatus van de personen. Analyses van USUV sequenties afkomstig van een gezond persoon en een ernstig zieke patiënt met neurologische problemen toonden aan dat de sequenties vrijwel identiek zijn, waardoor het aannemelijk is dat factoren zoals leeftijd, comorbiditeiten en immunestatus een rol spelen bij het ontwikkelen van gezondheidsproblemen.²⁰ In patiënten met ernstige neurologische symptomen waarbij USUV RNA is aangetoond in bloed of hersenvocht is seroconversie nooit gedemonstreerd. Omdat deze studies vaak ook retrospectief van aard zijn, heeft er ook geen follow-up studie plaats kunnen

vinden om een uitspraak te doen over mogelijke causaliteit.²⁶ Een vaccin tegen het *Usutu virus* is (nog) niet beschikbaar.

Al het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat het *Usutu virus* geen strikt dierpathogeen is, ingedeeld kan worden in pathogeniteitsklasse 2, en geplaatst kan worden op Bijlage 4, lijst 4.1 van de Regeling ggo.

6.1 Aanvullende opmerking betreffende werkzaamheden met USUV

Onder natuurlijke omstandigheden vindt transmissie voornamelijk plaats via muggenbeten. Onder niet-natuurlijke omstandigheden zou het virus zich ook kunnen verspreiden via prikaccidenten, bloedtransfusie en orgaantransplantatie, of mogelijk directe transmissie. Voor werkzaamheden met USUV onder laboratoriumomstandigheden is de COGEM van oordeel dat aerosolvorming tijdens de werkzaamheden te voorkomen dient worden (bij werkzaamheden met hoge virusconcentraties) en het werken met sharps tot een minimum beperkt dient te worden.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2017-01-01> (bezoekt: 30 juli 2018)
2. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/360/genus-flavivirus (bezoekt: 30 juli 2018)
3. Cadar D *et al.* (2014). *Usutu virus* in bats, Germany, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 20: 1771–1773
4. Nikolay B (2015). A review of West Nile and Usutu virus co-circulation in Europe: how much do transmission cycles overlap? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 109: 609–618
5. Ashraf U *et al.* (2015). *Usutu virus*: an emerging Flavivirus in Europe. *Viruses* 7: 219-238
6. Chvala S *et al.* (2004). Pathology and viral distribution in fatal *Usutu virus* infections of birds from the 2001 and 2002 outbreaks in Austria. *J. Comp. Path.* 131: 176–185
7. Weissenböck H *et al.* (2004). Experimental *Usutu virus* infection of suckling mice causes neuronal and glial cell apoptosis and demyelination. *Acta Neuropathol.* 108: 453-460
8. Weissenböck H *et al.* (2002). Emergence of *Usutu virus*, an African mosquito-borne flavivirus of the *Japanese encephalitis virus* group, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 652-656
9. Nikolay B *et al.* (2011). *Usutu virus* in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 11: 1417-1423
10. Bakonyi T *et al.* (2017). *Usutu virus*, Austria and Hungary, 2010–2016. *Emerg. Microbes Infect.* 6: e85
11. Scheuch DE *et al.* (2018). Detection of Usutu, Sindbis, and Batai viruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) collected in Germany, 2011–2016. *Viruses* 10: 389
12. Michel F *et al.* (2018). *West Nile virus* and *Usutu virus* monitoring of wild birds in Germany. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 15: pii: E171
13. Lühken R *et al.* (2017). Distribution of *Usutu virus* in Germany and its effect on breeding bird populations. *Emerg. Infect. Dis.* 23: 1994–2001

14. Cadar D *et al.* (2017). Widespread activity of multiple lineages of *Usutu virus*, Western Europe, 2016. *Euro Surveill.* 22: 30452
15. Dutch Wildlife Health Centre. Ziekte: Usutu. <https://www.dwhc.nl/ziekten/usutu/> (bezocht: 02 augustus 2018)
16. Rijks J *et al.* (2016). Widespread *Usutu virus* outbreak in birds in the Netherlands, 2016. *Euro Surveill.* 21: pii=30391
17. Sovon (1 mei 2018). Eerste cijfers 2018: minder Merels in steden en dorpen. <https://www.sovon.nl/nl/actueel/nieuws/eerste-cijfers-2018-minder-merels-steden-en-dorpen> (bezocht: 02 augustus 2018)
18. Becker N *et al.* (2012). Epizootic emergence of *Usutu virus* in wild and captive birds in Germany. *PLoS ONE* 7: e32604
19. Meister T *et al.* (2010). Serological evidence of continuing high *Usutu virus* (*Flaviviridae*) activity and establishment of herd immunity in wild birds in Austria. *Vet. Microbiol.* 127: 237
20. Bakonyi T *et al.* (2017). *Usutu virus* infections among blood donors, Austria, July and August 2017 – Raising awareness for diagnostic challenges. *Euro Surveill.* 22 doi: 10.2807/1560-7917
21. Pecorari M *et al.* (2009). First human case of *Usutu virus* neuroinvasive infection, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 14. pii: 19446
22. Cavrini F *et al.* (2009). *Usutu virus* infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 14. pii: 19448
23. Santini M *et al.* (2014). First cases of human *Usutu virus* neuroinvasive infection in Croatia, August–September 2013: clinical and laboratory features. *J. Neurovirol.* 21: 92-97
24. Grottola A *et al.* (2017). *Usutu virus* infections in humans: a retrospective analysis in the municipality of Modena, Italy. *Clin. Microbiol. Infect.* 23: 33-37
25. Simonin Y *et al.* (2018). Human *Usutu virus* infection with atypical neurologic presentation, Montpellier, France, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 24: 875-878
26. Gaibani P & Rossini G (2017). An overview of *Usutu virus*. *Microbes Infect.* 19: 382e387
27. Gaibani P *et al.* (2012). Detection of *Usutu-virus*-specific IgG in blood donors from northern Italy. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 12: 431-433
28. Allering L *et al.* (2012). Detection of *Usutu virus* infection in a healthy blood donor from south-west Germany, 2012. *Euro Surveill.* 17: pii=20341
29. Cadar D *et al.* (2017). Blood donor screening for *West Nile virus* (WNV) revealed acute *Usutu virus* (USUV) infection, Germany, September 2016. *Euro Surveill.* 22: pii=30501
30. COGEM (2017). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen. COGEM advies CGM/170522-03
31. COGEM (2015). Classificatie van *Elephantid herpesvirus* en *Modoc virus*. COGEM advies CGM/150902-01
32. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BAUA). Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 462. https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?__blob=publicationFile (bezocht: 31 juli 2018)

33. Richtlijn 2000/54/eg van het Europees Parlement en de Raad van 18 september 2000 betreffende de bescherming van de werknemers tegen de risico's van blootstelling aan biologische agentia op het werk. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32000L0054:NL:HTML> (bezocht: 31 juli 2018)
34. Barr AR (1967). Occurrence and distribution of the *Culex pipiens* complex. Bull. Wld. Hlth.Org. 37: 293-296