

Aan de minister van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 18 januari 2021  
**KENMERK** CGM/210118-03  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie TMUV, BAGV en ITV

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende een 2.13 verzoek (IG 20-299\_2.13-000) getiteld '*Tembusu virus* (TMUV), *Bagaza virus* (BAGV), *Israel Turkey meningoencephalomyelitis virus* (ITV)', ingediend door Wageningen Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

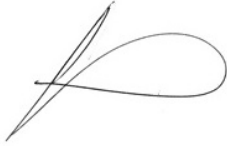
**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd de pathogeniteitsclassificatie van de flavivirussen *Tembusu virus* (TMUV), *Bagaza virus* (BAGV) en *Israel turkey meningoencephalomyelitis virus* (ITV) te bepalen en of deze virussen als strikt dier-, of dier- en humaanpathogeen beschouwd moeten worden. TMUV veroorzaakt ziekte met neurologische symptomen in verschillende vogelsoorten, wat in eenden tot hoge mortaliteit kan leiden. Dit virus kan zich met name in eendenpopulaties en eendenfokkerijen snel verspreiden. Er zijn vaccins beschikbaar met wisselende effectiviteit. BAGV leidt tot ziekte met neurologische symptomen in patrijzen, fazanten en houtduiven, wat in patrijzen tot hoge mortaliteit kan leiden. Ook BAGV veroorzaakt economische schade voor de pluimvee-industrie in de landen waar het virus voorkomt. ITV circuleert al decennia in Israël en veroorzaakt ziekte met neurologische symptomen en mortaliteit in kalkoenen. Er zijn vaccins voor ITV beschikbaar met wisselende effectiviteit.

Transmissie vindt voor deze virussen waarschijnlijk via muggen plaats, maar voor TMUV is verspreiding via aerosolen en direct contact aangetoond. BAGV kan zich mogelijk via direct contact verspreiden. Hoewel er neutraliserende antilichamen tegen TMUV en BAGV in serummonsters zijn aangetoond, zijn TMUV, BAGV en ITV nooit in verband gebracht met ziekte in mensen. De COGEM adviseert om TMUV, BAGV en ITV in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogeen en op te nemen in Bijlage 4 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.
- Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
  - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's  
DG Milieu en Internationaal

***Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn COGEM leden dr. ir. G.P. Pijlman en prof. dr. J. Kortekaas niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies***

# **Pathogeniteitsclassificatie *Tembusu virus*, *Bagaza virus* en *Israel turkey meningoencephalomyelitis virus***

## **COGEM advies CGM/210118-03**

### **1. Inleiding**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een 2.13 verzoek van Wageningen Universiteit (IG 20-299). Dit verzoek betreft de pathogeniteitsclassificatie van de drie flavivirussen *Tembusu virus* (TMUV), *Bagaza virus* (BAGV) en *Israel turkey meningoencephalomyelitis virus* (ITV) en opname van deze virussen op bijlage 4 van de Regeling ggo.<sup>1</sup> Tevens is de COGEM gevraagd te adviseren of deze virussen strikt dierpathogeen, of dier- en huamapathogeen zijn.

### **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.

### **2.1 Strikt dierpathogene virussen**

In 2014 heeft de COGEM in een advies beschreven aan welke criteria een virus moet voldoen om als strikt dierpathogeen virus aangemerkt te worden.<sup>2</sup> De definitie die zij hiervoor hanteert, luidt als volgt: *Een strikt dierpathogeen virus is een virus met een dier als primaire gastheer waarbij infectie, al dan niet gevolgd door ziekte, bij de mens nooit is waargenomen, tenzij onder uitzonderlijke omstandigheden.*

De overweging die de COGEM hanteert om dierpathogenen te classificeren wijkt op enkele punten af van die van humaanpathogenen. In 2014 heeft de COGEM in een signalering inzicht geboden in haar overweging bij de classificatie van dierpathogene micro-organismen, en aangegeven welke aspecten een rol spelen in haar oordeel.<sup>3</sup> De classificatie van dierpathogene micro-organismen is gebaseerd op vier elementen:

- a) het ziekmakende potentieel,
- b) de enzoötische aanwezigheid,
- c) het verspreidingspotentieel van het betreffende micro-organisme,
- d) de mogelijkheden om verspreiding in te perken.

Deze elementen belichten specifieke kenmerken van het betreffende micro-organisme en vormen ieder een onderdeel van de totale classificatie. De COGEM benadrukt hierbij dat geen van de elementen afzonderlijk een doorslaggevende rol heeft, maar altijd in samenhang met elkaar tot een classificatie leidt.

### **3. Algemene kenmerken flavivirussen**

Virussen uit het genus *Flavivirus* zijn arbovirussen en behoren tot de familie van de *Flaviviridae*.<sup>4</sup> Deze virussen kunnen via muggen (met name *Culex* spp. of *Aedes* spp.) en andere bloedzuigende geleedpotigen (o.a. teken) worden overgedragen. Het genus *Flavivirus* bevat soorten die ziekte kunnen veroorzaken bij mens of dier. Binnen het geslacht *Flavivirus* zijn 53 virussen ondergebracht.<sup>4</sup> De soorten met de grootste wereldwijde gezondheidsimplicaties voor de mens zijn *West Nile virus* (WNV), *Yellow fever virus* (YFV), *Japanese encephalitis virus* (JEV), *Dengue virus* (DENV), *Zika virus* (ZIKV) en *Tick-borne encephalitis virus* (TBEV).<sup>5,6</sup> TBEV wordt overgedragen door teken, en WNV, YFV, JEV, DENV en ZIKV worden door muggen overgedragen naar de mens. Naast flavivirussen die bij vertebraten infecties kunnen veroorzaken, zijn er ook flavivirussen die alleen insecten en geen vertebraten kunnen infecteren (insect-specifieke flavivirussen; ISFs).

Flavivirussen hebben een positief enkelstrengs RNA genoom van circa 11 kb. De virusdeeltjes worden omhuld door een membraan.<sup>7,8</sup> Het RNA codeert voor één enkel polyproteïne,<sup>9</sup> en de coderende sequentie wordt aan weerszijden geflankeerd door een ‘untranslated region’ (UTR). Door splitsing van het polyproteïne worden drie structurele eiwitten (C, (pr)M en E) en zeven niet-structurele eiwitten

(NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B en NS5) gevormd.<sup>6</sup> Het nucleocapside (C) omhult het RNA. De structurele eiwitten (pr)M en E zijn oppervlakte-eiwitten die betrokken zijn bij de binding van het virus aan de cellulaire receptor, de fusie van het virale membraan (de ‘envelop’) met het membraan van de gastheercel, en de immuniteit tegen het virus.<sup>10</sup> De NS-eiwitten hebben verschillende functies en zijn onder andere betrokken bij RNA-replicatie en de verwerking van het polyproteïne.<sup>11</sup> De assemblage van nieuwe virusdeeltjes vindt plaats in het endoplasmatisch reticulum (ER) van de gastheercel, waarbij ‘budding’ via het ER-membraan optreedt.<sup>12</sup>

### **3.1 Tembusu virus (TMUV)**

TMUV is voor het eerst geïsoleerd in 1955 in Kuala Lumpur, Maleisië, uit de muggensoort *Culex tritaeniorhynchus* en later uit *Culex vishnui*. Het virus is in Noord-Thailand ook geïsoleerd uit *Culex gelidus*.<sup>13</sup> Een uitbraak van TMUV is voor het eerst waargenomen in 2010 in China, waar het virus in eenden (*Anas platyrhynchos*) het ‘egg-drop syndrome’ veroorzaakte. Deze ziekte wordt gekenmerkt door vertraagde groei, hoge koorts, verlies in eetlust, verminderde eiproductie en neurologische verschijnselen, waarbij de mortaliteit kan oplopen tot 30%.<sup>13,14</sup> Sinds 2010 verspreidde TMUV zich snel door de Chinese regio’s waar eenden gefokt worden, en tastte zowel eenden als ganzen aan.<sup>15</sup> Bovendien is het virus aangetroffen in eenden in Thailand (2012) en Maleisië (2013-2014).<sup>16</sup>

### **3.2 Bagaza virus (BAGV)**

BAGV is voor het eerst geïsoleerd uit *Culex* spp. in 1966 in Bagaza, Centrale Afrikaanse republiek, en is ook in andere West-Afrikaanse landen en India geïsoleerd.<sup>17</sup> In 2010 is BAGV voor het eerst geïsoleerd uit patrijzen (*Alectoris rufa*) in zuidelijk Spanje, waarbij het virus ziekte en hoge mortaliteit (tot 30%) veroorzaakte.<sup>18</sup> BAGV veroorzaakt in deze dieren symptomen als zwakte, apathie, gewichtsverlies en gedragsveranderingen. Tijdens de BAGV uitbraak in 2010 in Spanje infecteerde het virus ook fazanten (*Phasianus colchicus*) en in mindere mate houtduiven (*Columba palumbus*).<sup>19</sup>

### **3.3 Isreal turkey meningoencephalomyelitis virus (ITV)**

ITV is voor het eerst geïsoleerd uit gedomesticeerde kalkoenen (*Meleagris gallopavo*) in Israël in 1958 en is ook in Zuid-Afrika in kalkoenen aangetroffen.<sup>17</sup> Het virus is ook in staat de Japanse kwartel (*Coturnix coturnix*) te infecteren. Kippen, eenden en duiven zijn niet vatbaar voor dit virus.<sup>19</sup> ITV veroorzaakt in kalkoenen ernstige neuroparalytische ziekte wat leidt tot parese, gebrek aan coördinatie, hangende vleugels en een mortaliteit van 15-30%.

## **4. Eerder COGEM advies**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over TMUV, BAGV en ITV. De COGEM heeft de flavivirussen DENV, JEV, TBEV, WNV, YFV, *Yokose virus* (als strikt dierpathogeen) en ZIKV in pathogeniteitsklasse 3, en *Modoc virus* en de insect-specifieke flavivirussen in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.<sup>20</sup>

## 5. Classificatie door andere beoordelende instanties

Het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft TMUV, BAGV en ITV ingedeeld in risicogroep 2.<sup>21</sup> Het Zwitserse ‘Bundesamt für Umwelt’ (BAFU) heeft ITV geclassificeerd in groep 3.<sup>22</sup>

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

## 6. Overweging en advies

### 6.1 Tembusu virus (TMUV)

TMUV kan ernstige ziekte veroorzaken in pluimvee. Wegens de snelle opkomst, verspreiding en mortaliteit heeft dit virus grote economische schade in de pluimvee-industrie veroorzaakt.<sup>16</sup> Hoewel TMUV eenden het meest lijkt aan te tasten, kan het virus ook leiden tot infectie en dood in kippen, ganzen, duiven en mussen.<sup>23</sup> Verspreiding van TMUV vindt waarschijnlijk via muggen plaats, maar transmissie tussen eenden, en mogelijk ook ganzen, kan plaatsvinden via direct contact, ingestie van gecontamineerd materiaal en via aerosolen.<sup>16,24</sup> Infectie en verspreiding van TMUV onder pluimvee wordt voorkomen door middel van inperkingsmaatregelen en vaccinatie, waarbij de huidige beschikbare vaccins variëren in effectiviteit.<sup>25,26</sup>

TMUV is in staat te repliceren in bepaalde zoogdiercellijnen (Vero, BHK21, HeLa, HepG2, SH-SY5Y).<sup>13</sup> Hoewel 72% van de serum monsters verkregen uit medewerkers van een eendenfokkerij antilichamen tegen TMUV bevatten, en 48% van orale swabs genomen uit deze medewerkers TMUV RNA bevatte, zijn er geen klinische gevallen van mensen met een TMUV-infectie bekend.<sup>27</sup> TMUV leidde tot een neurotroop fenotype gepaard met mortaliteit na intracerebrale toediening in muizen. Dit leidde niet tot viremie of klinische symptomen in resusapen, ondanks dat er in deze dieren een humorale immuunrespons tegen TMUV kon worden aangetoond.<sup>28</sup>

Al het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM TMUV als strikt dierpathogeen te beschouwen, in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en dat dit virus geplaatst kan worden op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

### 6.2 Bagaza virus (BAGV)

BAGV kan ziekte met hoge mortaliteit veroorzaken in patrijzen en fazanten. De patrijsoort *Alectoris rufa* is belangrijk voor de vleesindustrie in Zuid-Europa en het Verenigd Koninkrijk, waardoor BAGV infecties tot economisch verlies leiden.<sup>19</sup> Hoewel er aanwijzingen zijn dat directe transmissie van BAGV tussen fazanten mogelijk is, is dit nog niet definitief aangetoond.<sup>19</sup> Er is nog geen vaccin voor BAGV beschikbaar.

Enig verband tussen BAGV en symptomatische infectie van mensen werd gesuggereerd bij een uitbraak van encefalitis in India in 1996.<sup>29</sup> Enkele muggencollecties verzameld uit het gebied waar de uitbraak van encefalitis plaatsvond, bleken BAGV te bevatten en 15% van de sera van de encefalitis-patiënten

bevatte anti-BAGV neutraliserende antilichamen. Er zijn verder geen studies die aantonen dat BAGV in staat is ziekte te veroorzaken in mensen.

Al het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM BAGV als strikt dierpathogeen te beschouwen, in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en dat dit virus geplaatst kan worden op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

### **6.3 Israel turkey meningoencephalomyelitis virus (ITV)**

ITV kan ziekte veroorzaken in kalkoenen wat in deze vogels tot hoge mortaliteit kan leiden. De verminderde eiproductie en de benodigde inperkingsmaatregelen leiden tot aanzienlijke economische schade.<sup>16</sup> ITV circuleert al decennia in Israël. Transmissie van ITV via direct contact is niet aangetoond en verspreiding vindt waarschijnlijk via muggen plaats. Transmissie, doch inefficiënt, van ITV door *Aedes aegyptii* en *Culex pipiens* naar spenende muizen is aangetoond. Er zijn vaccins voor ITV beschikbaar gebaseerd op een geattenuëerd virus.<sup>16</sup> Er zijn geen publicaties waarin aangetoond wordt dat ITV ziekte in mensen kan veroorzaken.

Al het bovenstaande in overweging nemende, adviseert de COGEM ITV als strikt dierpathogeen te beschouwen, in te delen in pathogeniteitsklasse 2 en dat dit virus geplaatst kan worden op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

### **6.4 Samenvatting**

Samenvattend adviseert de COGEM TMUV, BAGV en ITV als strikt dierpathogeen te beschouwen en in te delen in pathogeniteitsklasse 2. Deze virussen kunnen als zodanig worden geplaatst op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

## **Referenties**

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072> (bezocht 8-1-2021)
2. COGEM (2014). Inventarisatie van strikt dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/141216-02
3. COGEM (2014). Criteria voor de classificatie van dierpathogene micro-organismen. COGEM signalering CGM/141013-02
4. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht: 11 januari 2021)
5. Oliveira ERA *et al.* (2017). The flavivirus capsid protein: Structure, function and perspectives towards drug design. *Virus Res.* 227: 115-123
6. Laureti M *et al.* (2018). Flavivirus Receptors: Diversity, Identity, and Cell Entry. *Front. Immunol.* 9: 2180. doi: 10.3389/fimmu.2018.02180.
7. Pierson TC & Diamond MS (2013). Flaviviruses. In: *Fields virology*, volume 1, sixth edition. Ed. Knipe DM *et al.*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
8. Simmonds P *et al.* (2017). ICTV Virus taxonomy profile: *Flaviviridae*. *J. Gen. Virol.* 98: 2-3

9. Matsuda M *et al.* (2018). High-throughput neutralization assay for multiple flaviviruses based on single-round infectious particles using dengue virus type 1 reporter replicon. *Sci. Rep.* 8(16624)
10. Pierson TC & Diamond MS (2013). Ch. 26. Flaviviruses. In: *Fields Virology*. Eds Knipe DM & Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
11. Simmonds P *et al.* (2012). Part II – The positive sense single stranded RNA viruses: Genus Flavivirus. In: *Virus Taxonomy, Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam
12. Lindenbach BD *et al.* (2013). Ch. 25. Flaviviridae. In: *Fields Virology*. Eds Knipe DM & Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
13. Zhang W *et al.* (2017). An updated review of avian-origin Tembusu virus: a newly emerging avian Flavivirus. *J. Gen. Virol.* 98: 2413-2420
14. Cao Z *et al.* (2010). *Tembusu virus* in Ducks, China. *EID.* 17(10)
15. Li S *et al.* (2013). Duck *Tembusu virus* exhibits neurovirulence in BALB/c mice. *Viol. J.* 10(260)
16. Benzarti E *et al.* (2019). Mosquito-borne epornitic flaviviruses: an update and review. *J. of Gen. Virol.* 100: 119-132
17. Fernández-Pinero J *et al.* (2014). *Bagaza virus* and *Israel turkey meningoencephalomyelitis virus* are a single virus species. *J. Gen. Virol.* 95: 883-887
18. Agüero M *et al.* (2011). *Bagaza Virus* in Partridges and Pheasants, Spain, 2010. *EID.* 17(8).
19. Llorente F *et al.* (2015). *Bagaza virus* is pathogenic and transmitted by direct contact in experimentally infected partridges, but is not infectious in house sparrows and adult mice. *Vet. Res.* 46: 93-104
20. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen. CGM advies CGM/190905-02
21. 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&v=8](https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?__blob=publicationFile&v=8) (bezoekt: 8 januari 2021)
22. Bundesamt für Umwelt (BAFU). (2013). Einstufung von Organismen. Modul 2: viren. Stand Januar 2013. <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/biotechnologie/publikationen-studien/publikationen/einstufung-von-organismen.html> (bezoekt 8 januari 2021)
23. Sun M *et al.* (2018). Recombinant *Newcastle disease virus* (NDV) expressing Duck *Tembusu virus* (DTMUV) pre-membrane and envelope proteins protects ducks against DTMUV and NDV challenge. *Vet. Microbiol.* 218: 60-69
24. Li X *et al.* (2015). Airborne Transmission of a Novel *Tembusu Virus* in Ducks. *J. Clin. Microbiol.* 53: 2734-2736
25. Yang Z *et al.* (2020). Immunogenicity and protective efficacy of an EB66® cell culture-derived duck *Tembusu virus* vaccine. *Avian Pathol.* 49: 448-456
26. He D *et al.* (2019). Development of an attenuated live vaccine candidate of duck *Tembusu virus* strain. *Vet. Microbiol.* 231: 218-225
27. Tang Y *et al.* (2013). *Tembusu Virus* in Human, China. *Transb. Em. Dis.* 60: 193-196
28. Wang HJ *et al.* (2016). The emerging duck flavivirus is not pathogenic for primates and is highly sensitive to mammalian interferon antiviral signaling. *J. Virol.* 90: 6538-6548.



29. Bondre VP *et al.* (2009). Generic characterization of *Bagaza virus* (BAGV) isolated in India and evidence of anti-BAGV antibodies in sera collected from encephalitis patients. *J. Gen. Virol.* 90: 2644-2649