

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. B. Visser
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 02 september 2021
KENMERK CGM/210902-01
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Mayaro virus*, Orsay virus, *Badu phasivirus*

Geachte mevrouw Visser,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Mayaro, Orsay, Kamiti River en Badu virus' (IG 21-150_2.13-000), ingediend door Wageningen Universiteit, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is verzocht te adviseren over de pathogeniteitsklasse van het *Mayaro virus* (MAYV), Orsay virus, en het *Badu Phasivirus* (BADUV). Tevens is zij gevraagd of deze virussen als strikt dierpathogeen, of als dier- en humaanpathogeen beschouwd dienen te worden.

MAYV wordt via tropische muggen overgedragen tussen gastheren. De voornaamste gastheren zijn niet-humane primaten, maar ook mensen kunnen via een muggenbeet geïnfecteerd worden. Infectie kan bij mensen 'Mayaro fever' veroorzaken, dat vergelijkbaar is met het ziektebeeld veroorzaakt door *Dengue virus* of *Chikungunya virus*. Kenmerkend zijn koortsachtige symptomen en ernstige en soms langdurige gewrichtspijn. Mogelijk kunnen ook andere muggen met een bredere geografische verspreiding als vector optreden.

Het Orsay virus is een natuurlijke pathogeen van de nematode *C. elegans*. Hoewel het virus in deze dieren afwijkingen kan geven aan de darmcellen, blijft het ziektebeeld mild en heeft infectie geen invloed op de overleving en het aantal nakomelingen dat geproduceerd kan worden. De COGEM is niet bekend met publicaties waaruit blijkt dat de mens, of andere diersoorten met het Orsay virus geïnfecteerd kunnen worden.

BADUV is een virus dat voorkomt in muggen. Omdat het virus niet replicateert in cellen van zoogdieren (waaronder mensen) acht de COGEM het onwaarschijnlijk dat BADUV mensen, of andere diersoorten buiten de mug kan infecteren.

Op basis van de huidige beperkte kennis adviseert de COGEM het Orsay virus en *Badu Phasivirus* als strikt dierpathogene virussen in te delen in pathogeniteitsklasse 2. De COGEM adviseert het *Mayaro virus* als dier- en humaanpathogeen virus in te delen in pathogeniteitsklasse 3.



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

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is COGEM lid dr. ir. G.P. Pijlman niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van drie virussen: *Mayaro virus*, Orsay virus en *Badu Phasivirus*

COGEM advies CGM/210902-01

1. Inleiding

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag van Wageningen Universiteit (IG 21-150), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van drie virussen, het *Mayaro virus*, het Orsay virus en het *Badu Phasivirus*, en voor de plaatsing van deze virussen op Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo¹). Tevens is de COGEM gevraagd of deze virussen als strikt dierpathogeen, of als dier- en humaanpathogeen beschouwd dienen te worden.

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.

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.² 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.³ 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. Mayaro virus

Mayaro virus (MAYV) is een positief-enkelstrengs RNA-virus behorende tot het genus *Alphavirus* binnen de familie *Togaviridae*.⁴ Het virus is voor het eerst gedetecteerd in Trinidad in 1954, waar het geïsoleerd is uit zieke boswerkers. Het genoom is ongeveer 11,7 kb in lengte en is opgebouwd uit 2 open leesramen (ORFs) die coderen voor vier niet-structurele eiwitten (nsP1, nsP2, nsP3 en nsP4) en zes structurele eiwitten (C, E1, E2, E3, 6K, en TF ('transframe')).⁵ Uit fylogenetische analyses op basis van nucleotidenovereenkomsten worden drie fylogenetische groepen van het virus onderscheiden: D ('dispersed'), L ('limited'), and N ('new'). Stammen behorende tot genotype D zijn in verschillende landen in Zuid-Amerika geïsoleerd, terwijl stammen van genotype L uitsluitend uit Brazilië of Haïti afkomstig zijn.^{6,7} Tot genotype N behoort tot nu toe slechts 1 sequentie, geïsoleerd in 2010 in Peru.⁸

Het virus is een zogenaamd 'arthropod borne virus' (arbovirus) en wordt overgebracht door muggen, met name door de muggensoort *Haemagogus janthinomys*. Deze muggensoort komt voornamelijk voor in de bossen van het tropisch regenwoud. Echter ook andere muggensoorten zoals *Aedes* spp. lijken als vector te kunnen optreden.^{14,9} Het is niet bekend hoe efficiënt deze vectoren zijn in het overdragen van het virus. Wilde niet-humane primaten zijn de voornaamste gastheren van het virus, en mogelijk kunnen ook andere vertebraten zoals knaagdieren, reptielen en vogels als secundaire gastheer optreden.⁵ Ook

mensen kunnen geïnfecteerd raken met MAYV via muggenbeten. Er is geen bewijs dat MAYV direct van mens tot mens wordt overgedragen.¹⁰ Wel bestaat het vermoeden dat het virus indirect overgebracht zou kunnen worden tussen mensen door muggen.^{14,10,11} Een enkele keer is melding gedaan van potentiële ‘airborne transmission’ in het laboratorium, mogelijk veroorzaakt door onderbreking van het vacuüm-systeem tijdens werkzaamheden in het veiligheidskabinet.¹²

Het virus repliceert in witte bloedcellen, en kan zich verspreiden naar botten, spieren en gewrichten. Infectie met MAYV kan bij mensen zogenoemde ‘Mayaro fever’ veroorzaken, wat gekenmerkt wordt door koorts, duizeligheid, hoofdpijn, spierpijn, diarree, uitslag en ernstige gewrichtspijn.^{5,14} De symptomen zijn lastig te onderscheiden van die veroorzaakt door andere arbovirussen, zoals *Dengue virus* of *Chikungunya virus*. De ziekte heeft een lage mortaliteit, en de meeste ziekteverschijnselen zijn zelflimiterend. De gewrichtspijn kan echter maanden tot jaren aanhouden.^{5,14,13} Er is geen vaccin of antiviraal middel ter behandeling van MAYV infecties voorhanden. Sinds de ontdekking van het virus in 1954 zijn met enige regelmaat uitbraken gerapporteerd in verschillende landen in Zuid- en Centraal Amerika. Er wordt aangenomen dat het aantal besmettingen sterk onderschat is, onder meer omdat een infectie ook asymptomatisch kan verlopen. In Europa zijn enkele MAYV besmettingen gerapporteerd van toeristen uit endemische gebieden.^{5,14}

4. Orsay virus

Het Orsay virus is in 2011 ontdekt in natuurlijke populaties van *Caenorhabditis elegans* nematoden in rottend fruit, die afwijkende darmcellen bezaten.¹⁵ Orsay virus is een positief-strengs RNA virus dat gelijkenis vertoont met nodavirussen, maar het virus is tot op heden nog niet geclassificeerd door de ICTV. Het virus wordt horizontaal overgedragen tussen *C. elegans* nematoden, waarschijnlijk via de fecaal-orale route. Het virus infecteert primair darmcellen.¹⁶ Naast de afwijkende darmcellen bleek de productie van nageslacht tijdens het volwassen levensstadium significant vertraagd bij geïnfecteerde dieren. Geïnfecteerde nematoden hadden verder geen kortere levensduur en er was ook geen verschil in het totaal aantal nakomelingen dat geproduceerd werd. Het Orsay virus lijkt specifiek te zijn voor *C. elegans*, en is niet in staat de verwante *Caenorhabditis briggsae* te infecteren.¹⁵ De ontdekking van deze natuurlijke *C. elegans* pathogeen heeft een nieuw modelsysteem voor onderzoek naar ‘virus-host’ interacties opgeleverd.¹⁷

5. Badu phasivirus

Het *Badu phasivirus* (BADUV) is een negatief-enkelstrengs RNA virus behorende tot het genus *Phasivirus* binnen de familie *Phenuiviridae* en de orde *Bunyavirales*.⁴ Het virus is ontdekt tijdens een surveillance naar het flavivirus *Japanese encephalitis virus* in muggen op Badu Island, een eiland in de Straat van Torres (Australië) in 2003.¹⁸ Het virus is geïsoleerd uit muggen van het genus *Culex*, en is niet in staat tot replicatie in verschillende zoogdiercellijnen (Vero, BHK-21 en SW13) of aviaire cellijnen (DF-1). In de DF-1 cellijn zijn wel kleine hoeveelheden RT-PCR producten gevonden, die mogelijk verklaard worden door ‘carry-over’ RNA of extreem lage virusreplicatie in deze cellen. In twee *Culex* cellijnen (Chao Ball en HSU) en C6/35 cellen afkomstig van de muggensoort *Aedes albopictus* was replicatie wel mogelijk.¹⁸

6. Eerder COGEM advies en classificatie door internationale instanties

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over MAYV, OV en BADUV. Wel heeft zij verschillende virussen uit het genus *Alphavirus*, familie *Togaviridae*, geassocieerd, waarbij *Chikungunya virus*, *Eastern equine encephalitis virus*, *Venezuelan equine encephalitis virus* (VEEV) en *Western equine encephalitis virus* ingedeeld zijn in pathogeniteitsklasse 3. Daarnaast zijn twee virussoorten en alle virussen uit de taxonomische ‘Eilat virus’ groep uit het genus *Alphavirus* als strikt dierpathogenen in klasse 2 ingedeeld, en zijn vijf virussen als dier- en humaanpathogeen in klasse 2 ingedeeld, waaronder de vaccinstam VEEV-TC-83.¹⁹

Het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft in de Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) het *Mayaro virus* ingedeeld in risicogroep 3 en beschouwt het als een zoönose. Tevens zijn aanvullende maatregelen geadviseerd bij werkzaamheden met geleedpotigen (natuurlijke vectoren) en/of in dierproeven.²⁰ De Zwitserse ‘Bundesamt für Umwelt’ (BAFU) heeft het *Mayaro virus* ingedeeld in risicogroep 3, met de vermelding dat deze virussen pathogeen zijn voor mensen en vertebraten.²¹ De ‘Belgian Biosafety Server’ heeft het *Mayaro virus* eveneens ingedeeld in risicogroep 3 als humaan pathogeen.²² Het Orsay virus en *Badu phasivirus* zijn niet genoemd op de classificatielijsten van Duitsland, Zwitserland en België. De classificaties door andere beoordelende instanties gelden als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. Overweging en advies

7.1 Classificatie Mayaro Virus

MAYV is een arbovirus en wordt via muggen overgedragen tussen gastheren. De voornaamste gastheren zijn niet-humane primaten, maar mogelijk kunnen ook andere vertebraten als gastheer optreden. Ook mensen kunnen via een muggenbeet geïnfecteerd worden met MAYV. Infectie kan bij mensen ‘Mayaro fever’ veroorzaken, dat weliswaar een lage mortaliteit heeft, maar op basis van klinische symptomen zeer vergelijkbaar is met het ziektebeeld dat veroorzaakt wordt door *Dengue virus* of *Chikungunya virus*. De ziekte wordt gekenmerkt door koortsachtige symptomen en ernstige en soms langdurige gewrichtspijn. De voornaamste vector betreft de muggensoort *H. janthinomys* die voorkomt in het tropisch regenwoud, maar er kan niet uitgesloten worden dat ook andere muggensoorten als vector op kunnen treden die een bredere geografische verspreiding kennen. De COGEM kan derhalve niet uitsluiten dat verspreiding van het virus in Nederland plaats zou kunnen vinden na een laboratoriuminfectie. Mede gezien de mogelijkheid dat de virussen zich in Europa kunnen vestigen en verspreiden, de aard van de ziekte die MAYV kan veroorzaken en de afwezigheid van therapie en profylaxe, adviseert de COGEM om het *Mayaro virus* als dier- en humaanpathogeen virus in te delen in pathogeniteitsklasse 3.

7.2 Classificatie Orsay virus

Het Orsay virus is een natuurlijke pathogeen van de nematode *C. elegans*. Hoewel het virus in deze dieren afwijkingen kan geven aan de darmcellen, blijft het ziektebeeld mild en heeft infectie geen

invloed op de overleving en het aantal nakomelingen dat geproduceerd kan worden. De beschikbare informatie over het Orsay virus is beperkt. Het virus lijkt specifiek te zijn voor *C. elegans*; zo blijkt uit laboratoriumonderzoek dat infectie van de verwante *C. briggsae* niet mogelijk is. De COGEM is niet bekend met publicaties waaruit blijkt dat de mens of andere gewervelde diersoorten met het Orsay virus geïnfecteerd kunnen worden. Op basis van de huidige beperkte kennis adviseert de COGEM het Orsay virus als een strikt dierpathogeen virus in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

7.3 Classificatie Badu phasivirus

BADUV is een virus dat voorkomt in muggen van het genus *Culex*. Het is recent beschreven, en de beschikbare informatie is zeer beperkt. De COGEM is niet bekend met publicaties waaruit blijkt dat de mens, andere gewervelde diersoorten of planten met BADUV geïnfecteerd kunnen worden. Aangezien het virus niet replicateert in zoogdiercellen, waaronder humane cellijnen, acht zij het onwaarschijnlijk dat BADUV mensen, of andere diersoorten buiten de mug kan infecteren. Het is onbekend of infectie met BADUV geassocieerd is met pathologie in de mug. Op basis van de huidige beperkte kennis, adviseert de COGEM het *Badu phasivirus* als een strikt dierpathogeen virus in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

8. Conclusie

Samengevat adviseert de COGEM het *Mayaro virus* als dier- en humaanpathogeen virus in te delen in pathogeniteitsklasse 3, en het Orsay virus en *Badu phasivirus* als strikt dierpathogene virussen in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu. Regeling genetisch gedomificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2021-04-01> (bezoekt: 09 augustus 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). Virus Taxonomy: 2020 Release. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezoekt: 24 augustus 2021)
5. Diagne CT *et al.* (2020). Mayaro Virus Pathogenesis and Transmission Mechanisms. *Pathogens*. 9:738. doi: 10.3390/pathogens9090738
6. Lednicky J *et al.* (2016). Mayaro Virus in Child with Acute Febrile Illness, Haiti, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 22: 2000-2002
7. Powers AN *et al.* Genetic relationships among Mayaro and Una viruses suggest distinct patterns of transmission. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75: 461–469
8. Auguste AJ *et al.* (2015). Evolutionary and Ecological Characterization of Mayaro Virus Strains Isolated during an Outbreak, Venezuela, 2010. *Emerg. Infect. Dis.* 21: 1742-1750
9. Brustolin M *et al.* (2018). Anopheles mosquitoes may drive invasion and transmission of Mayaro virus across geographically diverse regions. *PLoS Negl Trop Dis.* 12:e0006895. doi: 10.1371/journal.pntd.0006895

10. Public Health Agency of Canada (PHAC). <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/mayaro-virus.html> (bezocht: 30 augustus 2021)
11. Zuchi N *et al.* (2014). Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 109: 820-823
12. Junt T *et al.* (1999). Determination of natural versus laboratory human infection with Mayaro virus by molecular analysis. *Epidemiol. Infect.* 123: 511–513
13. Halsey ES *et al.* (2013). Mayaro Virus Infection, Amazon Basin Region, Peru, 2010–2013. *Emerg. Infect. Dis.* 19: 1839–1842
14. Mackay IM & Arden KE (2016). Mayaro virus: a forest virus primed for a trip to the city? *Microbes Infect.* 18: 724-734
15. Felix MA *et al.* (2011). Natural and Experimental Infection of *Caenorhabditis* Nematodes by Novel Viruses Related to Nodaviruses. *PLoS Biol* 9(1): e1000586
16. Franz CJ *et al.* (2014). Orsay, Santeuil and Le Blanc viruses primarily infect intestinal cells in *Caenorhabditis* nematodes. *Virology* 448: 255-264
17. Gammon DB (2017). *Caenorhabditis elegans* as an Emerging Model for Virus-Host Interactions. *J. Virol.* 91: e00509-17
18. Hobson-Peters J *et al.* (2016). Discovery and characterisation of a new insect-specific bunyavirus from *Culex* mosquitoes captured in northern Australia. *Virology* 489: 269-281
19. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen (2019). COGEM advies CGM/190905-02
20. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA) – Technical Rule for Biological Agents. https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?__blob=publicationFile (bezocht: 24 augustus 2021)
21. Federal Office for the Environment (FOEN). <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/biotechnologie/publikationen-studien/publikationen/einstufung-von-organismen.html> (bezocht: 24 augustus 2021)
22. Belgian Biosafety Server. https://www.biosafety.be/sites/default/files/h_a_virus.pdf (bezocht: 24 augustus 2021)