

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

**DATUM** 02 mei 2023  
**KENMERK** CGM/230502-01  
**ONDERWERP** Advies pathogeniteitsclassificatie van 9 coronavirussen

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een verzoek van het Amsterdam Universitair Medisch Centrum, locatie Academisch Medisch Centrum (AMC) is de COGEM gevraagd om de pathogeniteitsklasse van 29 virussen te bepalen (IG 23-040\_2.13-000). Hierover brengt de COGEM drie aparte adviezen uit. Het onderhavige advies betreft de pathogeniteitsclassificatie van 9 coronavirussen.

**Samenvatting:**

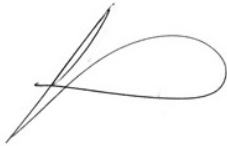
De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van 8 coronavirussen die aangetroffen zijn in vleermuizen, namelijk RaTG13, SHC014, Rf1, WIV1, Rs4081, Cp/Yunnan2011, BM48-31/BGR/2008 en BtKY72, en één coronavirus afkomstig van een schubdier: Pangolin BetaCoV Guandong2019.

Coronavirussen kunnen in verscheidene diersoorten en ook in mensen worden aangetroffen. De meest bekende coronavirussen zijn de pandemische virussen SARS-CoV en SARS-CoV-2, die ziekte bij mensen kunnen veroorzaken. In de afgelopen 20 jaar wordt met name in vleermuizen een zeer grote diversiteit aan coronavirussen aangetroffen. De 9 isolaten van coronavirussen waarover de COGEM om advies is gevraagd, hebben sequentieovereenkomsten met SARS-CoV of SARS-CoV-2. Het is niet altijd mogelijk gebleken om van al deze isolaten infectieus virus te isoleren, of (succesvol) een infectieuze kloon te construeren. Van een aantal isolaten kan het Spike-eiwit de humane receptor ACE-2 herkennen, dat ook door SARS-CoV en SARS-CoV-2 gebruikt wordt om humane cellen te infecteren. Op basis van de verwantschap met de pandemische virussen SARS-CoV en SARS-CoV-2, beschouwt de COGEM deze virusisolaten op basis van de huidige kennis te behoren bij de soort *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*. De COGEM heeft eerder de soort *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, waartoe SARS-CoV en SARS-CoV-2 behoren, als humaan- en dierpathogeen virus in pathogeniteitsklasse 3 ingedeeld.



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 het COGEM lid dr. A.T. Das niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.***

# **Pathogeniteitsclassificatie van negen coronavirussen uit vleermuizen en schubdier**

## **COGEM advies CGM/230502-01**

De COGEM is naar aanleiding van een verzoek van Amsterdam Universitair Medisch Centrum, locatie Academisch Medisch Centrum (IG 23-040) gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van in totaal 29 virussen voor plaatsing op lijst 4.1 van Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).<sup>1</sup> Hierbij is tevens gevraagd of deze virussen als strikt dierpathogeen of als dier- en humaan pathogeen beschouwd dienen te worden. Deze 29 virussen omvatten coronavirussen (familie *Coronaviridae*), mammarenavirussen (familie *Arenaviridae*) en *Torque teno midi virus 1 - 15* (familie *Anelloviridae*). In het onderhavige advies zal de COGEM adviseren over de pathogeniteitsklasse van negen coronavirussen, gedetecteerd in vleermuizen en schubdieren.

### **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.<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. Coronavirussen**

De familie *Coronaviridae* wordt onderverdeeld in drie subfamilies *Letovirinae*, *Orthocoronavirinae* en *Pitovirinae*. De subfamilies *Letovirinae* en *Pitovirinae* omvatten elk één genus (respectievelijk *Alphaletovirus* en *Alphapironavirus*), die weer één subgenus (respectievelijk *Milecovirus* en *Samovirus*) bevatten met elk één species (*Microhyla letovirus 1* en *Alphapironavirus bona*).<sup>4</sup> Letovirussen en pironavirussen infecteren voornamelijk amfibieën (letovirussen) en beenvissen (pironavirussen).<sup>5,6</sup> De subfamilie *Orthocoronavirinae* omvat vier genera: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gamma-coronavirus* en *Deltacoronavirus*, met in totaal 26 subgenera en 52 species.<sup>4,5,6</sup> Gamma- en deltacoronavirussen infecteren voornamelijk vogels, terwijl alpha- en betacoronavirussen alleen verschillende zoogdiersoorten infecteren, waaronder de mens. In vleermuizen wordt een zeer grote diversiteit aan coronavirussen aangetroffen. Verondersteld wordt dat vleermuizen een grote rol spelen bij de ecologie en evolutie van coronavirussen.<sup>5,6</sup>

Coronavirussen uit de subfamilie *Orthocoronaviridae* verspreiden zich via fomieten en via de respiratoire of fecale-orale route. Meestal zijn infecties mild of asymptomatisch, maar van enkele orthocoronavirussen is bekend dat zij ernstige ziekte kunnen veroorzaken, met soms fatale afloop in hun gastheer.<sup>5</sup> Eén van de meest bekende orthocoronavirussen is het sinds december 2019 wereldwijd circulerende SARS-CoV-2<sup>7</sup> (species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (SARSr-CoV), genus *Betacoronavirus*, subgenus *Sarbecovirus*), veroorzaker van het ziektebeeld COVID-19. Eerder is in 2003 al een uitbraak op meerdere continenten geweest van SARS-CoV, veroorzaker van het ziektebeeld SARS ('severe acute respiratory syndrome').

Coronavirussen bezitten een positief enkelstrengs RNA-genoom van 22 tot 36 kb, dat is omsloten door een eiwitmantel, bestaande uit nucleocapside-eiwitten (N). Het genoom en de eiwitmantel zijn omgeven door een lipidenmembraan met daarin de structurele eiwitten S ('spike'), E ('envelope') en M ('membrane'). Aan het 5'-uiteinde van het genoom bevinden zich twee grote, deels overlappende openleesramen: ORF1a en 1b. Deze beslaan ongeveer twee derde van het genoom en coderen voor een replicase-polyproteïne dat zichzelf opknipt in tot wel 16 niet-structurele eiwitten (nsps) die onder meer een rol spelen bij RNA-replicatie. De andere ORF's aan het 3' uiteinde coderen voor de structurele eiwitten (S, E, M, en N) en tot acht zogenoemde 'accessory' of accessoire eiwitten (afhankelijk van de coronavirus species).

Coronavirussen maken gebruik van verschillende cellulaire receptoren om cellen te infecteren, waaronder aminopeptidase N (APN), angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) en dipeptidyl peptidase-4 (DPP4).<sup>5</sup> Van SARSr-coronavirussen is bekend dat zij gebruik maken van de ACE2-receptor.

#### **4. Vleermuis- en schubdiercoronavirussen**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van 9 coronavirussen. Het betreft 8 virusisolaten uit vleermuizen: RaTG13, SHC014, Rf1, WIV1, Rs4081, Cp/Yunnan2011, BM48-31/BGR/2008 en BtKY72, en één coronavirusisolaat uit schubdieren: Pangolin BetaCoV Guandong2019. De aanvrager geeft aan dat deze virussen betacoronavirussen zijn, die grote gelijkenis hebben met SARS-CoV en SARS-CoV-2.

##### **4.1 RaTG13**

Vleermuis coronavirus RaTG13 is in 2013 gedetecteerd in Mojiang county, gelegen in het zuidelijke deel van de provincie Yunnan in China. Het virale genoom is gedetecteerd in de vleermuissoort *Rhinolophus affinis*, een hoefijzerneusvleermuis. Na de opkomst van SARS-CoV-2 in 2019 is het genoom van RaTG13 vergeleken met het SARS-CoV-2 genoom, en bleek het voor 96,2% hiermee overeen te komen.<sup>8</sup> Het receptorbindende domein van het Spike-eiwit is voor 93,1% identiek. Voor SARS-CoV-2 wordt aangenomen dat vijf aminozuren in het receptorbindende domein van het Spike-eiwit de affiniteit voor de ACE2-receptor bepalen. Bij RaTG13 komt maar één van de vijf aminozuren overeen met die van SARS-CoV-2.<sup>9</sup> RaTG13 Spike-eiwit bindt minder sterk aan de ACE-2 receptor dan het Spike-eiwit van SARS-CoV-2.<sup>10</sup> Ook ontbreekt de ('furin-like') S1/S2 klievingsplaats in het Spike-eiwit die wel aanwezig is in SARS-CoV-2.<sup>11</sup> Neutraliserende antilichamen die gevormd worden na

blootstelling aan SARS-CoV-2 of vaccinatie tegen SARS-CoV-2, blijken ook neutraliserend te zijn voor lentivirussen gepseudotypeerd met RaTG13-Spike.<sup>12</sup>

#### **4.2 SHC014**

Vleermuis coronavirus RsSHC014 (SHC014) is beschreven in 2013, nadat het gedetecteerd is in hoefijzerneusvleermuizen (*Rhinolophus sinicus*) tijdens een onderzoek naar ‘SARS-like’ coronavirussen in vleermuizen in de Chinese provincie Yunnan.<sup>13</sup> Een vergelijking op basis van de aminozuursequentie van het receptorbindende domein van het Spike-eiwit, toonde aan dat er 96% overeenkomst is in aminozuursequentie tussen SHC014 en het SARS-CoV dat verantwoordelijk was voor de pandemie in 2002-2003. Er zijn geen overeenkomsten met betrekking tot de aminozuren in het receptorbindend domein van het Spike-eiwit die bepalend zijn voor de ACE2 affiniteit tussen SHC014 en SARS-CoV.<sup>13</sup> Lentivirussen gepseudotypeerd met het Spike-eiwit van SHC014 zijn niet in staat om cellen te infecteren die de humane ACE2-receptor tot expressie brengen.<sup>14</sup> Wanneer het spike-gen van SHC014 geïnsereerd werd in replicatiecompetent, muis-geadapteerd SARS-CoV, bleek dit chimere coronavirus wel in staat om de humane ACE2-receptor te binden. Het chimere virus kan ook humane luchtwegepitheelcellen infecteren, waarbij ook virusrePLICATIE kan plaatsvinden. Op basis van de genomesequentie van SHC014 is een infectieuze kloon gesynthetiseerd, waarvan de replicatie in Verocellen vergelijkbaar is met die van SARS-CoV. In humane luchtweg-epitheelcellen is SHC014-CoV echter significant geattenuëerd. Ook bij *in vivo* infectie in muizen wordt in vergelijking met SARS-CoV minder virusrePLICATIE waargenomen in de longen.<sup>14</sup>

#### **4.3 Rf1**

Vleermuis coronavirus Rf1 is beschreven in 2005, toen bij een surveillance studie in 2004 onderzoek is gedaan naar SARS-coronavirussen in vleermuizen op vier locaties in China. Hoewel geen virusdeeltjes geïsoleerd konden worden uit PCR-positieve ontlastingmonsters, zijn wel genomesequenties geconstrueerd. Van Rf1 is een partieel genoom opgesteld op basis van de sequenties van PCR-fragmenten van een ontlastingmonster afkomstig van de hoefijzerneusvleermuissoort *Rhinolophus ferrumequinum* uit Hubei.<sup>15</sup> Uit een genomanalyse blijkt dat ORF3b, 154 aminozuren lang in SARS-CoV, in Rf1 uit 114 aminozuren bestaat. Over dit gedeelte blijkt 93% overeen te komen met de aminozuursequentie van SARS-CoV.<sup>21</sup>

#### **4.4 WIV1**

Vleermuis coronavirus WIV1 is tegelijkertijd met RsSHC014 beschreven in 2013, en is afkomstig uit dezelfde kolonie hoefijzerneusvleermuizen (*R. sinicus*) in China.<sup>13</sup> Hoewel van de meeste vleermuis-coronavirusisolaten enkel sequenties gedetecteerd zijn en vermeldingen over de isolatie van virusdeeltjes ontbreken, is WIV1 wel succesvol geïsoleerd uit monsters met een positief PCR-sigitaal voor SARS-like coronavirussen. WIV1 kan gebruik maken van de ACE2-receptor om cellen van verschillende gastheren te infecteren, en kan ook efficiënt repliceren in deze cellen. Antilichamen afkomstig van patiënten geïnfecteerd met SARS-CoV bleken neutraliserend te zijn tegen WIV1.<sup>13</sup> Een gesynthetiseerde infectieuze kloon van WIV1 en een chimeer waarbij het Spike-gen van WIV1 in een muis-geadapteerde SARS-CoV backbone was geïnsereerd, blijken op vergelijkbare wijze als wildtype

SARS-CoV in staat om humane luchtwegepitheelcellen te infecteren.<sup>16</sup> In een recente studie is WIV1 vergeleken met SARS-CoV-2, en bleek deze stam een verminderde replicatieve fitness te hebben in humane luchtwegcellen, en in mindere mate een proinflammatoire response te induceren.<sup>17</sup>

#### **4.5 Rs4081**

Vleermuiscoronavirus Rs4081 is beschreven in 2017, na een 5 jaar durende longitudinale studie naar SARS-like coronavirussen in vleermuizen waarbij eerder al de stammen WIV1 en SHC014 zijn gevonden. Rs4081 is afkomstig van de hoefijzerneusvleermuissoort *R. sinicus*.<sup>18</sup> Rs4081 bevat deleties in het receptorbindende domein in het Spike-eiwit, en de aminozuursequentie van het Spike-eiwit komt voor ongeveer 80% overeen met die van SARS-CoV. Van Rs4081 konden geen virusdeeltje worden geïsoleerd in Vero-E6 cellen.<sup>18</sup> In een latere studie werd aangetoond dat infectie van een chimeer virus waarbij het S-gen van Rs4081 in de WIV1-backbone is geïnsereerd, niet via de ACE-2 receptor plaatsvindt.<sup>19</sup>

#### **4.6 Cp/Yunnan2011**

Het vleermuiscoronavirus Cp/Yunnan2011 is beschreven in 2013. Het is gedetecteerd in vleermuizen tijdens een onderzoek naar de evolutionaire relatie tussen vleermuis coronavirussen dat plaatsvond van 2010 tot 2011 in China. Cp/Yunnan2011 (hierna Yunnan2011) is gedetecteerd in de vleermuissoort *Chaerephon plicata*, en van dit isolaat is de complete genoomsequentie geconstrueerd.<sup>20</sup> De sequentieovereenkomst tussen Yunnan2011 en SARS-CoV betreft 89,5%. De stam komt voor 50,4% overeen met het humane coronavirus HCoV-OC43, en 52,2% met MERS-CoV.

#### **4.7 BM48-31/BGR/2008**

Het vleermuiscoronavirus BM48-31/BGR/2008 is beschreven in 2010 nadat het gedetecteerd is in de hoefijzerneusvleermuissoort *Rhinolophus blasii* in Bulgarije tijdens een surveillance naar coronavirussen in vleermuizen in Europa.<sup>21</sup> Isolatie van het virus is niet gelukt, maar wel is het complete genoom van BM48-31 geconstrueerd. ORF3b, dat 154 aminozuren lang is in SARS-CoV, blijkt in BM48-31 uit 115 aminozuren bestaat. Over dit gedeelte komt 57% overeen met de aminozuursequentie van SARS-CoV. Daarnaast beschikt BM48-31 niet over ORF8; deze eigenschap lijkt typerend te zijn voor SARS-gerelateerde coronavirussen die in Europa voorkomen.<sup>21</sup> Verondersteld wordt dat een deletie van 29 nucleotiden in ORF8 van SARS-CoV een grote rol speelt bij de overstap naar de mens als gastheer. De aminozuursequentieovereenkomst van het Spike-eiwit tussen BM48-31 en SARS-CoV betreft 83,8% (74,7% identiteit). Wanneer gekeken wordt naar enkel het receptorbindend domein, is de sequentie-overeenkomst voor 67% identiek. Ook bleken neutraliserende antilichamen tegen SARS-CoV niet effectief tegen het BM48-31 Spike-eiwit.<sup>21</sup>

#### **4.8 BtKY72**

Het vleermuiscoronavirus BtKY72 is beschreven in 2019 en is gedetecteerd in hoefijzerneusvleermuizen (genus *Rhinolophus*) in Kenia, Afrika, na een 5 jaar durende surveillancestudie naar vleermuis coronavirussen.<sup>22</sup> Het volledige genoom is geconstrueerd. BtKY72 blijkt het meest verwant aan BM48-31, gedetecteerd uit *R. blasii* in Bulgarije (83% identiek op basis van de volledige

genoomsequentie). Op basis van de fylogenetische analyses zou BtKY72 tot het subgenus *Sarbecovirus* (genus *Betacoronavirus*) behoren, eerder aan verscheidene SARS-gerelateerde coronavirussen die eerder in vleermuizen in China zijn geïdentificeerd.<sup>22</sup> De ICTV heeft BtKY72 opgenomen als isolaat van de soort *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, maar geeft hierbij aan dat het geen officiële ICTV benaming betreft.<sup>23</sup>

#### **4.9 Pangolin Guandong2019 coronavirus**

Het schubdier (pangolin) Guangdong2019 coronavirus is beschreven in 2020.<sup>24</sup> In deze studie zijn verscheidene schubdiercoronavirusisolaten beschreven die aangetroffen zijn in weefsel afkomstig van Maleisische schubdieren (*Manis javanica*) die oorspronkelijk voorkomen in Zuidoost-Azië, maar illegaal zijn geïmporteerd naar China. In de provincie Guangdong (GD) in het zuiden van China zijn van twee isolaten partiële genoomsequenties geconstrueerd, die aangeduid worden als GD schubdiercoravirussen (GD/P1L en GD/P2S).<sup>24</sup> De partiële genomen representeren ongeveer 72% en 86,3% van het complete genoom van SARS-CoV-2. De sequentieovereenkomst tussen de verscheidene schubdiercoravirussen en SARS-CoV-2 varieert tussen de 85,5% en 92,4%. Hoewel het mogelijk bleek van een ander schubdiervirus (GX/P2V) infectieus virus te isoleren, is dat voor de GD schubdiervirussen niet beschreven.<sup>24</sup>

Het receptorbindende domein van het Spike-eiwit van de GD schubdiercoravirussen vertoont een hoge aminozuursequentieovereenkomst met die van SARS-CoV-2 (97,4% vergelijkbare aminozuren). Deze GD schubdiercoravirussen blijken tevens dezelfde aminozuren te bevatten die bepalend zijn voor de affiniteit voor de humane ACE2-receptor, als SARS-CoV-2. Het is vooralsnog onduidelijk of er sprake is geweest van recombinatie of convergente evolutie (gezien de hogere sequentieovereenkomst van de ACE2 receptor tussen mens en pangolin (~85%), dan tussen mens en vleermuis (~81%)).<sup>24</sup> Beschreven is dat in alle huidige schubdiercoravirussen een polybasische (furin-like) S1/S2 klievingsplaats ontbreekt in het Spike-eiwit, die wel aanwezig is in SARS-CoV-2.

#### **5. Eerder COGEM advies**

Eerder heeft de COGEM de soorten *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*, waaronder SARS-CoV<sup>25</sup> en SARS-CoV-2<sup>26</sup> vallen, en *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus*, waar MERS-CoV<sup>27</sup> toe behoort, ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.<sup>28</sup> De overige coronavirussen zijn in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.<sup>28</sup>

#### **6. Overweging en advies**

Sinds de uitbraak van SARS-CoV in 2003 zijn in veel vleermuissoorten coronavirussen gedetecteerd. Meer dan 4000 individuele sequenties van alfa- en betacoronavirussen zijn aangetroffen in 14 vleermuisfamilies, verspreid over 69 landen en zes continenten.<sup>29</sup> Hieronder vallen ook SARSr-coronavirussen, waarbij sequentieovereenkomsten tot 92 en 96% gerapporteerd zijn tussen isolaten uit vleermuizen en respectievelijk SARS-CoV en SARS-CoV2.<sup>29</sup> In vleermuizen veroorzaken deze coronavirussen meestal geen ziektesymptomen. Deze dieren fungeren als natuurlijk reservoir. Verondersteld wordt dat betacoronavirussen direct uit vleermuizen of via een tussengastheer kunnen overstappen naar de mens als gastheer. Voor SARS-CoV-2 is in 2020 het schubdier aangewezen als



mogelijke tussengastheer; daarna zijn ook andere dieren als mogelijke tussengastheer genoemd.<sup>29</sup> Of het pandemische coronavirus via een tussengastheer is overgesprongen, en welk dier als tussengastheer kan worden aangewezen is nog steeds onduidelijk.

Over het merendeel van de in dit advies beschreven coronavirusisolaten is weinig informatie te vinden. Met betrekking tot het Guangdong schubdiercoronavirus merkt de COGEM op dat tevens niet duidelijk is welke specifieke stam het in de aanvraag betreft. In de aangeleverde publicatie worden verscheidene schubdiercoronavirussen beschreven, waarvan twee uit Guangdong.

De meeste isolaten die in onderhavig advies beschreven zijn, zijn ontdekt door het sequensen van uit vleermuis of schubdier geïsoleerd genetisch materiaal. Vooralnog zijn alleen van WIV1 virusdeeltjes geïsoleerd uit vleermuizen,<sup>13</sup> en is het alleen voor WIV1 en SHC014 gelukt om (succesvol) een infectieuze kloon te construeren.<sup>14,16</sup> Van RaTG13, waarvan de sequentie 96% identiek is aan SARS-CoV-2 en dat in de eerste publicatie over SARS-CoV-2 genoemd wordt als het isolaat met het meeste verwantschap met het nieuwe coronavirus, is bijvoorbeeld niet bekend of het een bestaand infectieus virus betreft.<sup>30</sup>

Van een aantal isolaten kan het Spike-eiwit de humane receptor ACE-2 herkennen, zoals van WIV1 dat het eerste uit vleermuis geïsoleerde isolaat is dat direct in Vero-E6 cellen kan repliceren, en de ACE-2 receptor van verschillende gastheren kan herkennen.<sup>13</sup> Ook voor RatG13 en SHC014 is beschreven dat het Spike-eiwit aan de humane ACE-2 receptor kan binden.<sup>11,14</sup> Van de andere isolaten zijn geen experimentele gegevens over receptorherkenning van het Spike-eiwit bekend of is aangetoond dat ACE-2 niet herkend wordt.<sup>19</sup>

Op basis van sequentieovereenkomst clusteren de vleermuis- en schubdierisolaten uit deze aanvraag (RaTG13, SHC014, Rf1, WIV1, Rs4081, Cp/Yunnan2011, BM48-31/BGR/2008 en BtKY72, en Pangolin BetaCoV Guangdong2019) fylogenetisch in het subgenus *Sarbecovirus*, waar tot op heden één soort is ondergebracht: *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*. De COGEM is van oordeel dat de negen SARS-gerelateerde coronavirussen uit onderhavig advies op basis van de huidige beschikbare gegevens tot de soort *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* gerekend kunnen worden, en daarmee tot dezelfde pathogeniteitsklasse behoren. De soort SARSr-CoV is eerder ingedeeld in als dier- en humane pathogeen in pathogeniteitsklasse 3, vanwege mogelijk ernstige ziekte die veroorzaakt kan worden en het pandemische potentieel van virussen behorende tot deze soort.

## Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-04-01> (bezocht op 18 april 2023)
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: 2022 Release. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht op 18 april 2023)

5. Woo PCY *et al.* (2023): ICTV Virus Taxonomy Profile: *Coronaviridae* 2023, J. Gen. Virol. 104. doi: 10.1099/jgv.0.001843
6. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Family: Coronaviridae. <https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae> (bezocht op 2 mei 2023)
7. Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses (2020). The species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nat. Microbiol. 5: 536-544
8. Zhou P *et al.* (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 579: 270-273
9. Zhou H *et al.* (2020). A novel bat coronavirus closely related to SARS-CoV-2 contains natural insertions at the S1/S2 cleavage site of the spike protein. Curr. Biol. 30: 2196-2203
10. Liu K *et al.* (2021). Binding and molecular basis of the bat coronavirus RaTG13 virus to ACE2 in humans and other species. Cell. 184: 3438-3451
11. Andersen KG *et al.* (2020). The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat Med. 26: 450-452
12. Cantoni D *et al.* (2022). Pseudotyped Bat Coronavirus RaTG13 is efficiently neutralised by convalescent sera from SARS-CoV-2 infected patients. Comm. Biol. 5: 409
13. Ge XY *et al.* (2013). Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature 503: 535-538
14. Menachery VD *et al.* (2015). A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. Nature 21: 1508-1513
15. Li W *et al.* (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. Science, 310: 676-678
16. Menachery VD *et al.* (2016). SARS-like WIV1-CoV poised for human emergence. PNAS 113: 3048-3053
17. Yang Y *et al.* (2023). Strategy To Assess Zoonotic Potential Reveals Low Risk Posed by SARS-Related Coronaviruses from Bat and Pangolin. mBio, e0328522. doi: 10.1128/mbio.03285-22
18. Hu B *et al.* (2017). Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. PLoS pathog. 13: e1006698
19. Guo H *et al.* (2013). ACE2-Independent Bat Sarbecovirus Entry and Replication in Human and Bat Cells. mBio.13: e0256622
20. Yang L *et al.* (2013). Novel SARS-like betacoronaviruses in bats, China, 2011. Emerg. Infect. Dis. 19: 989-991
21. Drexler JF *et al.* (2010). Genomic characterization of severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in European bats and classification of coronaviruses based on partial RNA-dependent RNA polymerase gene sequences. J. Virol. 84: 11336-11349
22. Tao Y & Tong S (2019). Complete genome sequence of a severe acute respiratory syndrome related coronavirus from Kenyan bats. Microbiol. Resour. Announc. 8: e00548-19
23. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Report on Virus Classification and Taxon Nomenclature. Subfamily: Orthocoronavirinae, Genus: Betacoronavirus. <https://ictv.global/report/chapter/coronaviridae/coronaviridae/betacoronavirus> (bezocht: 24 april 2023)
24. Lam TTY *et al.* (2020). Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. Nature 583: 282-285

25. COGEM (2003). Toekenning pathogeniteitsklasse voor het aan SARS geassocieerde coronavirus. COGEM advies CGM/030429-01
26. COGEM (2020). Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met het nieuwe coronavirus 2019-nCoV uit Wuhan. COGEM advies CGM/200211-01
27. COGEM (2013). Inschaling van werkzaamheden met gg- Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus. COGEM advies CGM/130822-01
28. COGEM (2021). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene RNA- en DNA-virussen (2021). COGEM advies CGM/211117-01
29. Ruiz-Aravena M *et al.* (2021). Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. *Nat. Rev. Microbiol.* 20: 299-314
30. Frutos R *et al.* (2022). There is no “origin” to SARS-CoV-2. *Environ Res.* 207:112173