

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 10 mei 2017
KENMERK CGM/170510-01
ONDERWERP Advies herziening classificatie cell fusing agent virus (CFAV)


Geachte mevrouw Dijkma,

De COGEM heeft de pathogeniteitsclassificatie van het cell fusing agent virus (CFAV) heroverwogen. Zij deelt u het volgende mee.

Samenvatting:

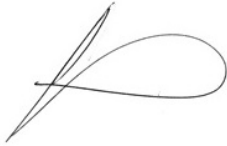
In 2009 heeft de COGEM een advies uitgebracht over het cell fusing agent virus (CFAV). Gezien de geringe hoeveelheid gegevens die bekend was over de herkomst, overdracht en verspreiding van CFAV, is CFAV destijds ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. De toegenomen wetenschappelijke inzichten over CFAV vormen voor de COGEM reden om de pathogeniteitsclassificatie van dit virus te herzien.

Het cell fusing agent virus (CFAV) behoort tot de familie *Flaviviridae* en is genetisch verwant aan virussen binnen het genus *Flavivirus*. CFAV behoort tot groep van de zogenaamde insect-specifieke flavivirussen (ISF's), welke uitsluitend kunnen repliceren in insecten. De natuurlijke gastheer van dit diervirus is de mug. Het virus wordt aangetroffen in verschillende muggensoorten. Er zijn geen aanwijzingen dat CFAV ziekte veroorzaakt in muggen, andere dieren of mensen. Deze gegevens vormen voor de COGEM reden om te adviseren CFAV omlaag te schalen naar pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogeen.



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 IenM

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

Advies herziening classificatie cell fusing agent virus

COGEM advies CGM/170510-01

1. Inleiding

In een eerder advies heeft de COGEM het cell fusing agent virus (CFAV) ingeschaald als een klasse 3 pathogeen.¹ De huidige stand van wetenschappelijke kennis over CFAV vormt voor de COGEM reden om de pathogeniteitsclassificatie van dit virus te herzien.

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. Strikt dierpathogenen

Naast de pathogeniteitsklasse-indeling wordt bij de inschaling van ggo-werkzaamheden met virussen of virale sequenties in Bijlage 5 van de Regeling ggo ook onderscheid gemaakt tussen virussen die strikt dierpathogeen zijn, en virussen die pathogeen zijn voor mens en dier. In Bijlage 4 van de Regeling ggo is een lijst van virussen opgenomen met de pathogeniteitsklasse waarin zij ingedeeld zijn. Tevens wordt voor ieder van de virussen in deze Bijlage aangegeven of zij tot de groep van humaan- en dierpathogene virussen of de groep van strikt dierpathogene virussen worden gerekend.

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.

4. Insect-specifieke flavivirussen (ISF's)

Het cell fusing agent virus (CFAV) behoort tot de familie *Flaviviridae* en is genetisch verwant aan virussen binnen het genus *Flavivirus*. De 'International Committee on Taxonomy of Viruses' (ICTV) heeft CFAV echter (nog) niet als soort binnen het genus opgenomen.⁴

Flavivirussen hebben een positief enkelstrengs RNA genoom van ongeveer 11 kb.⁵ Het genomisch RNA van deze virussen codeert voor één enkel polyproteïne en wordt aan weerszijden geflankeerd door een non-translated region (NTR). Door splitsing van het polyproteïne worden drie structurele eiwitten, het capsid (C), premembraan/membraan (prM/M) en envelop eiwit (E), en zeven niet-structurele eiwitten (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B en NS5) gevormd.⁵

De meeste flavivirussen zijn zogenaamde ‘arthropod borne viruses’ (arbovirussen).^{4,5} Arbovirussen kunnen via vectoren zoals muggen en andere bloedzuigende geleedpotigen (bijvoorbeeld teken) horizontaal worden overgedragen naar vertebraten.⁷ Vele van deze virussen zijn pathogeen voor mens en dier, en veroorzaken ziektes zoals dengue, gele koorts, encefalitis en Zika-geassocieerde syndromen.^{5,6} Daarnaast zijn er de afgelopen jaren een groot aantal flavivirussen geïdentificeerd die specifiek zijn voor insecten. Deze insect-specifieke flavivirussen (ISF’s) lijken niet geassocieerd met ziekte.^{5,8} ISF’s zijn wereldwijd geïsoleerd uit (natuurlijke) muggenpopulaties en vormen fylogenetisch gezien een aparte groep binnen de *Flaviviridae*.^{5,8}

Verondersteld wordt dat insect-specifieke virussen (ISV’s), waaronder de ISF’s, evolutionaire voorlopers zijn van de arbovirussen.⁷ In tegenstelling tot arbovirussen, die zowel artropoden als vertebraten kunnen infecteren, is het gastheerbereik van ISV’s beperkt tot insecten.⁷

ISF’s kunnen niet repliceren in cellen van gewervelde dieren.^{5,6,8} In een recente studie met chimere ISF varianten is onderzocht welke factoren een rol spelen bij het gastheerbereik van ISF’s.⁷ Het gastheerbereik bleek onder andere bepaald te worden op het niveau van virale aanhechting en ‘entry’, genoomreplicatie, en virale ‘assembly’ en ‘release’. Dit wijst erop dat er meerdere barrières doorbroken moeten worden alvorens het gastheerbereik van ISF’s zich zou kunnen uitbreiden naar bijvoorbeeld vertebraten.⁷

4.1 Cell fusing agent virus (CFAV)

Het cell fusing agent virus (CFAV) is het eerste gekarakteriseerde virus binnen de groep van ISF’s.⁹ Het originele virusisolaat van CFAV is meer dan 35 jaar geleden geïsoleerd uit een cellijn afkomstig van *Aedes aegypti* muggenembryo’s.⁹ CFAV kan celfusie in *Aedes albopictus* celculturen veroorzaken.⁹ Het virus vertoont geen serologische cross-reactiviteit met andere flavivirussen.^{8,10}

CFAV is geïsoleerd uit natuurlijke muggenpopulaties in Puerto Rico¹¹ en Thailand¹². Verder is het ook aangetroffen in uit het veld verzamelde muggen in Indonesië¹³, Mexico¹⁴ en Argentinië (GenBank Accession No. DQ335466-7). CFAV is niet met ziekte geassocieerd en wordt aangetroffen in verschillende muggensoorten waaronder *A. albopictus*, *A. aegypti* en *Culex* sp.^{5,11,12} De aanwezigheid van CFAV in mannelijke en vrouwelijke muggen, en in muggen van alle levensstadia wijst erop dat het waarschijnlijk via verticale transmissie wordt overgedragen.^{5,6,11}

5. Classificaties van andere beoordelende instanties

Het Duitse ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA) heeft CFAV ingedeeld in risicogroep 2.¹⁵

6. Eerder COGEM advies en classificaties van andere beoordelende instanties

De COGEM heeft in het verleden meerdere flavivirussen geclassificeerd.¹ Zo zijn *Dengue virus* (DENV), *Japanese encephalitis virus* (JEV), *Tick-borne encephalitis virus* (TBE), *West Nile virus* (WNV), *Yellow Fever Virus* (YFV), *Yokose virus* (YokV) en *Zika virus* ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.^{1,16} DENV, JEV, TBE, WNV, YFV en *Zika virus* kunnen overgedragen worden via geïnfecteerde muggen en teken, en ziekte veroorzaken in mens en dier. Het *Modoc*

virus (MODV) is door de COGEM in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld. Dit virus kan niet worden overgedragen via vectoren en infecteert hertmuizen.¹⁷

In 2009 heeft de COGEM een advies uitgebracht over CFAV.¹⁸ Gezien de geringe hoeveelheid gegevens die bekend was over de herkomst, overdracht en verspreiding van CFAV, is CFAV destijds ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. Verder adviseerde de COGEM de voorgenomen werkzaamheden met CFAV uit te voeren op ML-III inperkingsniveau.^{1,18}

7. Overwegingen en advies

De toegenomen wetenschappelijke inzichten over CFAV vormen voor de COGEM reden om de classificatie van CFAV te herzien. CFAV behoort tot groep van de zogenaamde insect-specifieke flavivirussen (ISF's), welke uitsluitend kunnen repliceren in insecten. De natuurlijke gastheer van dit diervirus is de mug. Het virus wordt aangetroffen in verschillende muggensoorten. Er zijn geen aanwijzingen dat CFAV ziekte veroorzaakt in muggen, andere dieren of mensen. Deze gegevens vormen voor de COGEM reden om te adviseren CFAV omlaag te schalen naar pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogeen.

Referenties

1. COGEM (2014). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen. COGEM advies CGM/141218-02
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. The Online (10th) report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Flaviviridae*. Genus: *Flavivirus*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/positive-sense-rna-viruses/w/flaviviridae/360/genus-flavivirus (bezocht: 15 maart 2017)
5. Blitvich BJ & Firth AE (2015). Insect-specific flaviviruses: a systematic review of their discovery, host range, mode of transmission, superinfection exclusion potential and genomic organization. *Viruses* 10: 1927-1959
6. Zhang G *et al.* (2016). *Wolbachia* suppresses cell fusing agent virus in mosquito cells. *J. Gen. Virol.* 97: 3427-3432
7. Junglen S *et al.* (2017). Host Range Restriction of Insect-Specific Flaviviruses Occurs at Several Levels of the Viral Life Cycle. *mSphere*. 2: pii: e00375-16. doi: 10.1128/mSphere.00375-16.
8. Calzolari M *et al.* (2016). Insect-specific flaviviruses, a worldwide widespread group of viruses only detected in insects. *Infect. Genet. Evol.* 40: 381-388
9. Stollar V & Thomas VL (1975). An agent in the *Aedes aegypti* cell line (Peleg) which causes fusion of *Aedes albopictus* cells. *Virology*. 64: 367-377
10. Cammisa-Parks H *et al.* (1992). The complete nucleotide sequence of cell fusing agent (CFA): homology between the nonstructural proteins encoded by CFA and the nonstructural proteins encoded by arthropod-borne flaviviruses. *Virology*. 189: 511-524

11. Cook S *et al.* (2006). Isolation of a new strain of the flavivirus cell fusing agent virus in a natural mosquito population from Puerto Rico. 87: 735-748
12. Yamanaka A *et al.* (2013). Genetic and evolutionary analysis of cell-fusing agent virus based on Thai strains isolated in 2008 and 2012. *Infect. Genet. Evol.* 19: 188-194
13. Hoshino K. *et al.* (2009). Isolation and characterization of a new insect flavivirus from *Aedes albopictus* and *Aedes flavopictus* mosquitoes in Japan. *Virology*. 391: 119–129
14. Espinoza- Gómez F *et al.* (2011). Detection of sequences from a potentially novel strain of cell fusing agent virus in Mexican *Stegomyia (Aedes) aegypti* mosquitoes. *Arch. Virol.* 156: 1263-1267
15. BAUA. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 462. <http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/TRBA-462.html> (bezocht: 15 maart 2017)
16. COGEM (2016). Classificatie van en inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerd *Zika virus*. COGEM advies CGM/160307-01
17. COGEM (2015). Classificatie van *Elephantid herpesvirus* en *Modoc virus*. COGEM advies CGM/150902-02
18. COGEM (2009). Inschaling werkzaamheden met flavivirussen CFA en YokV. COGEM advies CGM/090119-04