

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

DATUM 12 april 2023
KENMERK CGM/230412-03
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van Torque teno midi virus 1 -15

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 15 virussoorten uit het genus *Gammatorquevirus*.

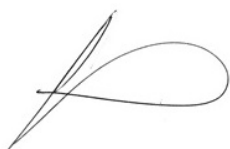
Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsclassificatie van 15 virussoorten uit het genus *Gammatorquevirus*, namelijk *Torque teno midi virus 1- 15* (TTMDV1-15). TTMDV1-15 behoren tot de familie *Anelloviridae*. Anellovirussen komen wereldwijd voor en worden in verschillende diersoorten aangetroffen, waaronder de mens. In verschillende studies worden bij meer dan 90% van de volwassenen anellovirussen aangetroffen. Het is niet geheel duidelijk of anellovirussen ook betrokken zijn bij ziekte in mensen. Verondersteld wordt dat deze virussen op verschillende manieren overgedragen kunnen worden, gezien hun aanwezigheid in secreties en excreties. Mensen kunnen tegelijkertijd geïnfecteerd zijn met meerdere anellovirussen, die maanden tot jaren aanwezig kunnen blijven. TTMDV's zijn gedetecteerd in zowel gezonde personen als patiënten met hemofilie, en ook in chimpansees. Uit serumonderzoek bleek dat in 40 tot 75% van de gezonde personen TTMDV DNA aangetroffen is. Ook voor TTMDV's is geen causaal verband met ziekte bij de mens of chimpansee aangetoond.

Op basis van hun verwantschap met de reeds geclassificeerde Torque teno virus en Torque teno mini virus, de vaak hoge prevalentie en het gebrek aan directe aanwijzingen voor pathogeniteit, is de COGEM van oordeel dat de anellovirussen *Torque teno midi virus 1 - 15* ingedeeld kunnen worden als humaan- en dierpathogene virussen 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. 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 *Torque teno midi virus 1-15*

COGEM advies CGM/230412-03

1. Inleiding

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).¹ Hierbij wordt 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 *Torque teno midi virus 1- 15* (TTMDV1-15).

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.

3. Anellovirussen

De virussoorten *Torque teno midi virus 1-15* (TTMDV1-15) behoren tot het genus *Gammatorquevirus* van de familie *Anelloviridae*. Tegenwoordig worden door de 'International Committee on Taxonomy of Viruses' (ICTV) onder de familie *Anelloviridae* 30 genera onderscheiden, en 156 species.² Anellovirussen komen wereldwijd voor en worden in verschillende diersoorten en in mensen aangetroffen. Zo worden in varkens anellovirussen uit de genera *Kappatorquevirus* en *Iotatorquevirus* aangetroffen, en zijn in zeeleeuwen anellovirussen uit het genus *Lambdatorquevirus* gedetecteerd. De eerste anellovirussen die aangetroffen zijn in mensen betreffen de Torque teno virussen (TTV, genus *Alphatorquevirus*), gevolgd door de Torque teno mini virussen (TTMV, genus *Betatorquevirus*) en later ook de Torque teno midi virussen (TTMDV, genus *Gammatorquevirus*).³

Verondersteld wordt dat deze humane anellovirussen onderdeel uitmaken van het humane viroom: de collectie aan virussen die van nature bij mensen voorkomen. Deze virussen zijn dan ook in veel verschillende monsters gedetecteerd, zoals in speeksel, bloed, gal, ontlasting, traanvocht, sperma, moedermelk en urine.^{4,5} In verschillende cohorten worden bij >90% van de volwassen mensen anellovirussen aangetroffen.³ Het is niet duidelijk of anellovirussen ook betrokken zijn bij ziekte in mensen.^{4,3} Sommige aandoeningen, zoals astma en COVID-19, kunnen voor een verhoogde virustiter zorgen, maar een causaal verband is hierbij niet aangetoond.³ Immunosuppressieve behandeling kan eveneens voor een verhoging van de virustiter zorgen, waaruit opgemaakt kan worden dat de virussen door het immuunsysteem onder controle worden gehouden.^{5,3}

Humane anellovirussen kunnen waarschijnlijk op veel verschillende manieren overgedragen worden, gezien hun aanwezigheid in secreties en excreties. Mensen kunnen tegelijkertijd geïnfecteerd zijn met meerdere anellovirussen, die maanden tot jaren aanwezig kunnen blijven. De aanwezige anellovirussen verschillen vaak sterk tussen individuele personen, maar kunnen binnen families wel gelijkenissen vertonen.³

4. Torque teno midi virus 1-15

Torque teno midi virusdeeltjes bevatten een klein circulair enkelstrengs DNA-genoom van ongeveer 3,2 kb. TTMDV's zijn verwant aan de Torque teno virussen (TTV) en Torque teno mini virussen (TTMV). TTV, TTMV en TTMDV verschillen onderling in genoomgrootte, waarbij TTV het grootste genoom heeft (3,8 – 3,9 kb), en TTMV het kleinste genoom (2,8 – 2,9 kb). De genoomorganisatie van TTDMV's is vergelijkbaar met die van TTV en TTMV en bevat vier deels overlappende open leesramen (ORF's). Door alternatieve transcriptie-initiatie kunnen minstens 5-7 eiwitten geproduceerd worden, maar de functie van de eiwitten is nog grotendeels onbekend. Dit komt voornamelijk omdat het nog niet mogelijk

is gebleken om humane anellovirussen te kweken in celculturen. Ook ontbreekt een geschikt diermodel. Van het grootste ORF (ORF1) wordt verondersteld dat deze een rol speelt bij de structuur van het virusdeeltje; mogelijk fungeert het als capside-eiwit.¹³

Het aan TTMDV verwante TTV is als eerst beschreven in 1997 en is oorspronkelijk geïsoleerd uit serum van een patiënt met post-transfusie hepatitis in Japan. TTMV is in 2000 ontdekt met behulp van PCR waarbij TTV-primers gebruikt werden maar kortere amplicons waargenomen werden. TTMDV's zijn in 2007 voor het eerst beschreven. Voorafgaand hieraan zijn eerst twee TTV-achtige virussen geïsoleerd uit serum van patiënten met een acute virale infectie, in eerste instantie aangemerkt als 'small anellovirus 1' (SAV1) en 'small anellovirus 2' (SAV2).⁶ Hierop volgend zijn tijdens een screening op SAV's in serumsamples van Japanse hemofiliepatiënten de genomsequenties van drie nieuwe isolaten geconstrueerd. De genomgrootte van deze isolaten bleek tussen die van de TTV en TTMV in te liggen, en groter te zijn dan de eerder beschreven SAV's. Een deel van het genoom van de isolaten bleek te overlappen met SAV1 en SAV2, waarvan 76-99% van sequentie identiek was. Op basis van fylogenetische analyse is voorgesteld de isolaten als de nieuwe soort te introduceren: *Torque teno midi virus* (TTMDV).⁷ SAV1 en SAV2 zijn waarschijnlijk incomplete genomsequenties of deletiemutanten van TTMDV. In 2009 zijn de drie isolaten door de ICTV ondergebracht onder de soortnamen *Torque teno midi virus 1* en *Torque teno midi virus 2*.⁸

Ook in gezonde mensen zijn TTMDV sequenties aangetroffen.⁷ Na verdere analyse van serum afkomstig van hemofiliepatiënten en gezonde individuen in Japan, zijn sequenties van 15 TTMDV-isolaten verkregen. In 40% van de geteste gezonde personen bleken TTMDV-sequenties in het serum aanwezig te zijn.⁹ Later is in een grotere groep gezonde volwassenen en kinderen uit Japan een prevalentie van 75% gerapporteerd.¹⁰

Ook in het serum van chimpansees uit een primatenpark in Japan zijn TTMDV-sequenties aangetroffen, maar deze bleken fylogenetisch niet verwant te zijn aan de TTMDV's die in mensen zijn geïdentificeerd.¹¹ In 2010 zijn de verschillende isolaten afkomstig van mensen en chimpansees op basis van fylogenetische analyses onderverdeeld in 13 nieuwe TTMDV soorten; *Torque teno midi virus 3* tot en met *Torque teno midi virus 15*.¹²

Er is veel genetische diversiteit onder de verschillende TTMDV's, zoals ook al eerder is beschreven voor TTV's en TTMV's. Anellovirussen worden van elkaar onderscheiden op basis van nucleotide-sequentieovereenkomst van het ORF1, waarbij initieel een afkapwaarde van 65% sequentieovereenkomst werd gehanteerd,¹³ dat later is bijgesteld naar 69%.¹⁴ Door nieuwe detectiemethoden waarmee beter onderscheid gemaakt kan worden tussen de verschillende *Torque teno* virussen (TTV, TTMV, TTMDV)¹⁰ worden in rap tempo nieuwe isolaten en soorten beschreven.

5. Eerder COGEM advies

In de meest recente pathogeniteitsclassificatielijst van de COGEM zijn uit dezelfde familie (*Anelloviridae*) de verwante soorten *Torque teno virus 1-29* (genus *Alphatorquevirus*) en *Torque teno mini virus 1-12* (genus *Betatorquevirus*) in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld.¹⁵

6. Pathogeniteitsclassificaties door andere beoordelende instanties

In de ‘Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe’ (TRBA) van de ‘Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin’ (BAUA), die zich voor de risicobeoordeling richt op veiligheid voor medewerkers, zijn de TTMDV niet opgenomen. Wel zijn TTMV en TTV geclassificeerd en ingedeeld in risicogroep 2.¹⁶ De Torque teno midi virussen zijn eveneens niet opgenomen in de classificatielijsten van de Zwitserse ‘Bundesamt für Umwelt’ (BAFU)¹⁷ en de Belgische biologische veiligheidsinstantie ‘Belgian Biosafety Server’.¹⁸ De inschaling door deze buitenlandse instanties geldt als referentie en achtergrondinformatie bij de risicobeoordeling die door de COGEM wordt uitgevoerd.

7. Overweging en advies

Anellovirussen zijn veelvoorkomende virussen die in dieren en mensen worden aangetroffen. Hoewel de eerste humane anellovirussen geïsoleerd zijn uit patiënten, worden ze ook veelvuldig gedetecteerd in gezonde personen. Een duidelijke relatie tussen aanwezigheid van anellovirussen en ziekte is (nog) niet aangetoond. TTMDV’s zijn gedetecteerd in mensen, zowel gezonde personen als patiënten met hemofilie, en in chimpansees. Uit serumonderzoek zijn prevalenties van 40-75% gerapporteerd. Mogelijk betreffen de lage prevalenties een onderrapportage, omdat de genetische diversiteit problemen met detectie en identificatie kan opleveren. Ook voor TTMDV’s is tot op heden geen direct causaal verband met ziekte bij de mens of chimpansee beschreven.

Op basis van hun verwantschap met TTV en TTMW, de soms hoge prevalentie en het gebrek aan directe aanwijzingen voor pathogeniteit, is de COGEM van oordeel dat de huidige beschreven anellovirussen *Torque teno midi virus 1 - 15* ingedeeld kunnen worden als humaan- en dierpathogene virussen in pathogeniteitsklasse 2, en geplaatst kunnen worden op Bijlage 4, lijst 4.1 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2023-04-01> (bezocht op 5 april 2023)
2. International Committee on Taxonomy of Viruses. Taxonomy browser. <https://ictv.global/taxonomy> (bezocht op 30 maart 2023)
3. Taylor LJ *et al.* (2022). The enigmatic roles of Anelloviridae and Redondoviridae in humans. Curr. Opin. Virol. 55: 101248
4. Kaczorowska J & van der Hoek L (2020). Human anelloviruses: diverse, omnipresent and commensal members of the virome. FEMS microbiol Rev. 44: 305-313
5. Spandole S *et al.* (2015). Human anelloviruses: an update of molecular, epidemiological and clinical aspects. Arch. Virol. 160: 893-908
6. Jones MS *et al.* (2005). New DNA viruses identified in patients with acute viral infection syndrome. J. Virol. 79: 8230-8236
7. Ninomya M *et al.* (2007). Identification and genomic characterization of a novel human torque teno virus of 3.2 kb. J. Gen. Virol. 88: 1939-1944

8. International Committee on Taxonomy of Viruses. Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee - 2007.075a-xxV. Create the family Anelloviridae containing 9 new genera and 47 new species. <https://ictv.global/ictv/proposals/2007.075a-xxV.v4.Anelloviridae.pdf> (bezocht op 6 april 2023)
9. Ninomiya M *et al.* (2007). Analysis of the entire genomes of fifteen torque teno midi virus variants classifiable into a third group of genus Anellovirus. Arch. Virol. 152: 1961-1975
10. Ninomiya M *et al.* (2008). Development of PCR assays with nested primers specific for differential detection of three human anelloviruses and early acquisition of dual or triple infection during infancy. J. Clin. Microbiol. 46: 507-514
11. Ninomiya M *et al.* (2008). Analysis of the entire genomes of torque teno midi virus variants in chimpanzees: infrequent crossspecies infection between humans and chimpanzees.
12. International Committee on Taxonomy of Viruses. Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee – 2010.008aV. 13 new species in the genus *Gammatorquevirus*. <https://ictv.global/ictv/proposals/2010.008aV.A.v2.Gammatorquevirus-13sp.pdf> (bezocht op 6 april 2023)
13. Biagini P *et al.* (2012). Family *Anelloviridae*. In: Virus taxonomy: ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Eds: King AMQ *et al.* Academic press, London
14. Varsani A *et al.* (2021). Taxonomic update for mammalian anelloviruses (family *Anelloviridae*). Arch. Virol. 166: 2943-2953
15. COGEM (2021). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene RNA- en DNA-virussen (2021). COGEM advies CGM/211117-01
16. Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAUA, 2012). <https://www.baua.de/DE/Angebote/Rechtstexte-und-Technische-Regeln/Regelwerk/TRBA/TRBA-462.html> (bezocht op 30 maart 2023)
17. Federal Office of the Environment (FOEN, 2013). <https://www.bafu.admin.ch/bafu/en/home/topics/biotechnology/publications-studies/publications/classification-of-organisms.html> (bezocht op 30 maart 2023)
18. Belgian Biosafety Server (2008). <https://www.biosafety.be/content/tools-belgian-classification-micro-organisms-based-their-biological-risks> (bezocht op 30 maart 2023)