

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

DATUM 25 september 2023
KENMERK CGM/230925-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie *Mamastrovirus 6, 8 en 9*

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een verzoek van het Amsterdam Medisch Centrum om de pathogeniteitsklasse te bepalen van *Mamastrovirus 6, 8 en 9* (IG 23-138_2.13-000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

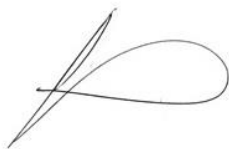
De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Mamastrovirus 6, 8 en 9*, ook bekend als humaan Astrovirus MLB en VA/HMO.

Mamastrovirus 6, 8 en 9 zijn voor het eerst geïsoleerd uit patiënten met diarree, maar worden ook veel aangetroffen in gezonde personen. Een duidelijke relatie tussen ziektesymptomen en *Mamastrovirus 8 en 9* is (nog) niet aangetoond. Voor maar één van de drie genotypen van *Mamastrovirus 6* zijn aanwijzingen gevonden dat er een correlatie is tussen infectie en diarree. De exacte manier waarop deze drie virussen verspreiden is onbekend, maar vindt vermoedelijk plaats via de fecaal-orale route. Ook de exacte prevalentie is niet bekend. Eerste onderzoeken wijzen uit dat >65% van gezonde volwassenen antilichamen bezit tegen één van de genotypen van *Mamastrovirus 6* of 9. Er zijn respectievelijk vier en negen gevallen bekend waarbij infectie met *Mamastrovirus 6* of 9 heeft geleid tot ernstige neurologische symptomen. Dit waren, op één persoon geïnfecteerd met *Mamastrovirus 6* na, allen patiënten met een verzwakt immuunsysteem.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat *Mamastrovirus 6, 8 en 9* ingedeeld dienen te worden in pathogeniteitsklasse 2 en deze als dusdanig opgenomen 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 van dit advies.

Pathogeniteitsclassificatie van *Mamastrovirus* 6, 8 en 9

COGEM advies CGM/230925-02

1. Inleiding

In verband met een verzoek van het Amsterdam Medisch Centrum (IG 23-138), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van *Mamastrovirus* 6, 8 en 9 (ook bekend als humaan Astrovirus stammen MLB en VA/HMO) voor plaatsing op lijst 4.1 van Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit lijsten van micro-organismen die pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Lijst 4.1 betreft de indeling in klassen van pathogene virussen.

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. Mamastrovirussen

De familie *Astroviridae* is onderverdeeld in twee genera, *Mamastrovirus* en *Avastrovirus*, op basis van hun respectievelijke gastheer, zoogdieren of vogels.² De ‘International Committee of Taxonomy of Viruses’ (ICTV) erkent 19 mamastrovirussen, die alle voornamelijk gastro-enteritis veroorzaken.³ Er zijn vier humane Mamastrovirussen (*Mamastrovirus 1, 6, 8 en 9*). Deze pathogeniteitsclassificatie heeft betrekking op *Mamastrovirus 6, 8 en 9*.

Mamastrovirussen zijn kleine virussen met een diameter van ongeveer 21-41 nm.⁴ Het positief enkelstrengs RNA-genoom wordt ingekapseld door een eiwitmantel. Het genoom van 6,2 tot 7,7 kb bevat drie, deels overlappende, open leesramen (ORF) die coderen voor het capside-precursoreiwit en twee niet-structurele polyproteïnes.^{5,6,7} De niet-structurele eiwitten worden via een ribosomale frameshift van het genomische RNA getransleerd als twee grote polyproteïnes, nsP1a en nsP1a/1b. Deze polyproteïnes bevatten onder andere een protease, een RNA-afhankelijke RNA polymerase en het VPg (‘viral protein genome-linked’), evenals een aantal eiwitten die nog niet gekarakteriseerd zijn.⁷ Verwacht wordt dat deze niet-gekaracteriseerde eiwitten betrokken zijn bij genoomreplicatie. Het derde ORF wordt vanaf een subgenomisch RNA tot expressie gebracht en codeert voor het capside-precursor eiwit VP90. Na post-translationele klieving van VP90 door caspases van de gastheer wordt het VP70 gevormd, wat door extracellulaire proteases verder wordt gekliefd in de drie structurele capside-eiwitten: VP34, VP27 en VP25. De eiwitmantel wordt gevormd door 180 kopieën van ieder capside-eiwit.^{8,9,10}

Er zijn aanwijzingen dat er recombinatie heeft plaatsgevonden tussen mamastrovirussen van mensen en varkens op plekken waar deze nauw in contact waren. Deze recombinatie heeft vermoedelijk plaatsgevonden na transmissie van humane mamastrovirussen van mens naar varkens.^{3,11,12} Zulke recombinatie-evenementen zijn ook gemeld tussen verschillende astrovirussen van niet-humane zoogdieren en vogels.^{13,14}

4. Humane astrovirussen

In de wetenschappelijke literatuur wordt gesproken over “klassieke” (*Mamastrovirus 1*) en “nieuwe” of “atypische” (*Mamastrovirus 6, 8 en 9*) humane astrovirussen (HAstV). Deze “nieuwe” humane mamastrovirussen zijn in 2008 en 2009 ontdekt. *Mamastrovirus 6* staat ook bekend als HAstV-MLB. *Mamastrovirus 8 en 9* staan beiden ook bekend als HAstV-VA of -HMO. Deze namen representeren de locaties waar ze voor het eerst gedetecteerd zijn (Melbourne; MLB; en Virginia; VA), en de dierlijke astrovirussen (human-mink-ovine; HMO) waaraan ze fylogenetisch verwant zijn.^{15,16} De drie humane mamastrovirussen *Mamastrovirus 6, 8 en 9* worden inmiddels wereldwijd gedetecteerd.^{17,18,19}

4.1 Mamastrovirus 6, 8 en 9

Onderscheid tussen verschillende mamastrovirussen wordt gemaakt op basis van de capside-eiwitten. Binnen dezelfde mamastrovirussoort behoren de verschillende stammen minstens 75% van de identiteit van de capside-eiwitten te delen.²⁰ Daarnaast wordt er binnen soorten ook onderscheid gemaakt op genotypen. *Mamastrovirus 6* is in 2008 als eerste “atypische” humane astrovirus geïdentificeerd en hierbinnen worden drie genotypen onderscheiden: HAsV-MLB1, -MLB2 en -MLB3. HAsV-MLB1 werd gedetecteerd in een fecessample uit 1999 van een driejarig kind met diarree dat een levertransplantatie had ondergaan.²¹ HAsV-MLB2 is voor het eerst gevonden in neus-, keel en bloedplasmasamples van een kind met koorts.¹⁵ Het genotype HAsV-MLB3 is in 2013 voor het eerst gevonden bij kinderen met en zonder diarree in India.²²

Van *Mamastrovirus 8* zijn ook drie genotypen bekend: HAsV-VA2, ook bekend als HAsV-HMO-A, en -VA4 en -VA5. HAsV-VA2/HMO-A staat bekend onder beide namen, omdat het genotype in 2009 gelijktijdig is gedetecteerd door twee onafhankelijke onderzoeksgroepen. HAsV-VA2/HMO-A is voor het eerst gedetecteerd in feces van zowel kinderen in Pakistan en Nigeria die acute spiervlamming vertoonde, als bij kinderen in India met diarree.^{23,24,25} HAsV-VA4 is voor het eerst geïsoleerd uit feces van kinderen met diarree.²² HAsV-VA5 is in 2015 voor het eerst gedetecteerd in een fecessamples afkomstig van een persoon zonder ziekteverschijnselen.¹⁷

Er zijn twee genotypen bekend van *Mamastrovirus 9*: HAsV-VA1 en -VA3, respectievelijk ook bekend als HAsV-HMO-C en -HMO-B. Beide zijn in 2009 gelijktijdig door twee onafhankelijke onderzoeksgroepen geïdentificeerd; HAsV-VA1 in feces van mensen met diarree, en mensen zonder klachten. HAsV-VA3 in feces van kinderen met acute verlamingsverschijnselen en kinderen met diarree.^{23,24,25,26}

4.2 Transmissie, prevalentie en symptomen

Astrovirussen worden veelal overgedragen via fecaal-orale transmissie, door besmet voedsel, water of objecten (fomieten). Hoewel *Mamastrovirus 6, 8 en 9* worden gedetecteerd in rioolwater, is de exacte transmissieroute van deze virussen nog onbekend.^{18,27} *Mamastrovirus 6, 8 en 9* hebben mogelijk een zoönotische oorsprong, en clusteren fylogenetisch samen met animale mamastrovirussen.²⁸ Daarnaast is infectie met *Mamastrovirus 6, 8 en 9* aangetoond in niet-menselijke primaten.^{29,30}

Wereldwijd wordt circa 3-4% van gastro-enteritis veroorzaakt door mamastrovirussen.³¹ *Mamastrovirus 6, 8 en 9* worden voornamelijk gedetecteerd in fecessamples bij mensen met diarree, vooral bij kinderen, maar ook bij mensen zonder klachten. Soms worden deze virussen ook gedetecteerd in neus- en keelmonsters, en bloedplasma van patiënten met koorts en acute luchtwegaandoeningen.²⁵ Er is beperkt epidemiologisch onderzoek gedaan naar de “atypische” mamastrovirussen en er is alleen voor HAsV-MLB1 (*Mamastrovirus 6*) een significante associatie gevonden met diarree.^{17,22,25, 32,33} De prevalentie van *Mamastrovirus 6, 8 en 9* is lastig in te schatten, doordat hier weinig onderzoek naar gedaan is. Hoewel de drie virussen weinig worden aangetroffen in fecessamples, bleek uit sero-epidemiologisch onderzoek dat meer dan 85% van gezonde mensen tussen de 2 maanden en 95 jaar oud

antilichamen heeft tegen HAstV-MLB1 (behorende tot *Mamastrovirus* 6), en zo'n 65-100% van de volwassenen antilichamen tegen HAstV-VA1 (behorende tot *Mamastrovirus* 9) bezit.^{34,35,36} Er zijn geen gegevens bekend van andere genotypen, of van *Mamastrovirus* 8.

Naast de mogelijke associatie met diarree, veroorzaken *Mamastrovirus* 6 of 9 in zeer uitzonderlijke gevallen ernstige neurologische symptomen, zoals acute spierverlamming en hersen(vlies)ontsteking. De prevalentie van mamastrovirussen in patiënten waarbij hersenvochtsamples worden genomen, is zeer laag, variërend van 0% tot 0,2%.^{15,16} Er zijn vier gevallen bekend waarbij infectie met *Mamastrovirus* 6 (HAstV-MLB1 en -MLB2) heeft geleid tot infecties van het centraal zenuwstelsel, zoals hersen(vlies)ontsteking. Drie van de vier patiënten waren immuungecompromitteerd.^{15,37,38} Daarnaast zijn er negen gevallen bekend waarbij infectie met *Mamastrovirus* 9 (HAstV-VA1) heeft geleid tot neurologische klachten, waarbij zes met fatale afloop.^{16,39,40,41,42,43,44,45} Alle negen patiënten hadden een verzwakt immuunsysteem. Er zijn geen gevallen bekend waarbij infectie met *Mamastrovirus* 8 heeft geleid tot neurologische symptomen.

5. Eerder COGEM advies en pathogeniteitsclassificaties internationale instanties

De COGEM heeft recent *Mamastrovirus* 1 geclassificeerd en deze ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.⁴⁶

6. Overweging en advies

Mamastrovirus 6, 8 en 9 zijn voor het eerst geïsoleerd uit patiënten met diarree, maar worden ook veel aangetroffen in gezonde personen. Voor *Mamastrovirus* 8 en 9 is (nog) geen correlatie aangetoond met ziektesymptomen, en maar voor één van de drie genotypen van *Mamastrovirus* 6 zijn aanwijzingen gevonden voor een correlatie met diarree. De exacte transmissieroute van deze drie virussen is onbekend, maar vindt vermoedelijk plaats via de fecaal-orale route. Ook de exacte prevalentie is niet bekend. Eerste onderzoeken wijzen uit dat >65% van de gezonde volwassenen antilichamen bezit tegen één van de genotypen van *Mamastrovirus* 6 of 9. Er zijn respectievelijk vier en negen gevallen bekend waarbij infectie met *Mamastrovirus* 6 of 9 heeft geleid tot ernstige neurologische symptomen. Dit waren, op één persoon geïnfecteerd met *Mamastrovirus* 6 na, allen patiënten met een verzwakt immuunsysteem.

Het bovenstaande in overweging nemende adviseert de COGEM *Mamastrovirus* 6, 8 en 9 in pathogeniteitsklasse 2 in te delen en op te nemen in 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>
2. ICTV. Taxonomy browser 2022 Release. <https://ictv.global/taxonomy> (bezocht: 15 september 2023)
3. Cortez V *et al.* (2017). Astrovirus biology and pathogenesis. *Annu. Rev. Virol.* 4: 327–348
4. York RL *et al.* (2015). Structural, mechanistic, and antigenic characterization of the human astrovirus capsid. *J. Virol.* 90: 2254–2263
5. Willcocks MM & Carter MJ (1993). Identification and sequence determination of the capsid protein gene of human astrovirus serotype 1. *FEMS Microbiol. Lett.* 114: 1–7
6. Monroe SS *et al.* (1993). Subgenomic RNA sequence of human astrovirus supports classification of Astroviridae as a new family of RNA viruses. *J. Virol.* 67: 3611–3614
7. Méndez E *et al.* (2012). Replication cycle of astroviruses. *Astrovirus Research*, Ed. Schultz-Cherry S. Springer New York 7: 19–45
8. del Rocío Banos-Lara M & Méndez E (2010). Role of individual caspases induced by astrovirus on the processing of its structural protein and its release from the cell through a non-lytic mechanism. *Virology* 401: 322–332
9. Toh Y *et al.* (2004). Crystal structure of the human astrovirus capsid protein. *J. Virol.* 90: 9008–9017
10. Mendez E *et al.* (2004). Caspases mediate processing of the capsid precursor and cell release of human astroviruses. *J. Virol.* 78: 8601–8608
11. Lukashov VV & Goudsmit J (2002). Evolutionary relationships among Astroviridae. *J. Gen. Virol.* 83: 1397–1405
12. Iloa JC & Gutierrez MF (2010). Genomic analysis of two ORF2 segments of new porcine astrovirus isolates and their close relationship with human astroviruses. *Can. J. Microbiol.* 56: 569–577
13. Nagai M *et al.* (2015). Full genome analysis of bovine astrovirus from fecal samples of cattle in Japan: identification of possible interspecies transmission of bovine astrovirus. *Arch. Virol.* 160: 2491–2501
14. Walter JE *et al.* (2001). Molecular characterization of a novel recombinant strain of human astrovirus associated with gastroenteritis in children. *Arch. Virol.* 146: 2357–2367
15. Cordey S *et al.* (2016). Astrovirus MLB2, a new gastroenteric virus associated with meningitis and disseminated infection. *Emerg. Infect. Dis.* 22: 846–853
16. Brown JR *et al.* (2015). Astrovirus VA1/HMO-C: An increasingly recognized neurotropic pathogen in immunocompromised patients. *Clin. Infect. Dis.* 60: 881–888
17. Meyer CT *et al.* (2015). Prevalence of classic, MLB-clade and VA-clade Astroviruses in Kenya and The Gambia. *Virol. J.* 12: 78
18. Tao Z *et al.* (2022). Detection of multiple human astroviruses in sewage by next generation sequencing. *Water Res.* 218: 118523
19. Nijhuis RHT *et al.* (2018). PCR assays for detection of human astroviruses: in silico evaluation and design, and in vitro application to samples collected from patients in the Netherlands. *J. Clin. Virol.* 108: 83–89
20. Phan TG *et al.* (2014). New astrovirus in human feces from Burkina Faso. *J. Clin. Virol.* 60: 161–164

21. Finkbeiner SR *et al.* (2008). Metagenomic analysis of human diarrhea: viral detection and discovery. *PLoS Pathog.* 4: e1000011
22. Jiang H *et al.* (2013). Comparison of novel MLB-clade, VA-clade and classic human astroviruses highlights constrained evolution of the classic human astrovirus nonstructural genes. *Virology* 436: 8-14
23. Kapoor A *et al.* (2009). Multiple novel astrovirus species in human stool. *J. Gen. Virol.* 90: 2965-2972
24. Finkbeiner SR *et al.* (2009). Human stool contains a previously unrecognized diversity of novel astroviruses. *Virol. J.* 6: 161
25. Vu DL *et al.* (2020). Novel human astroviruses: Novel human diseases?. *J. Clin. Virol.* 82: 56-63
26. Finkbeiner SR *et al.* (2009). Identification of a novel astrovirus (astrovirus VA1) associated with an outbreak of acute gastroenteritis. *J. Virol.* 83: 10836-10839
27. Hata A *et al.* (2015) Wastewater Analysis Indicates that Genetically Diverse Astroviruses, Including Strains Belonging to Novel Clades MLB and VA, Are Circulating within Japanese Populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 4932-4939
28. Vu DL *et al.* (2017). Epidemiology of Classic and Novel Human Astrovirus: Gastroenteritis and Beyond. *Viruses*.9: 33
29. Karlsson EA *et al.* (2015). Non-human primates harbor diverse mammalian and avian astroviruses including those associated with human infections. *PLOS Pathog.* 11: e1005225
30. Wang X *et al.* (2016). Viral metagenomics of fecal samples from non-human primates revealed human astrovirus in a chimpanzee, China. *Gut Pathog.* 8: 53
31. Farahmand M *et al.* (2023). Worldwide prevalence and genotype distribution of human astrovirus in gastroenteritis patients: A systematic review and meta-analysis. *Microb. Pathog.* 181: 106209
32. Holtz LR *et al.* (2011). Astrovirus MLB1 is not associated with diarrhea in a cohort of Indian children. *PLoS One* 6: e28647
33. Vu DL *et al.* (2020). A Spanish case-control study in <5 year-old children reveals the lack of association between MLB and VA astrovirus and diarrhea. *Sci. Rep.* 10: 1760
34. Holtz LR *et al.* (2014). Seroepidemiology of astrovirus MLB1. *Clin. Vaccine Immunol.* 21: 908-911
35. Burbelo PD *et al.* (2011). Serological studies confirm the novel astrovirus HMOAstV-C as a highly prevalent human infectious agent. *PLoS One* 6: e22576
36. Janowski AB *et al.* (2021). High seropositivity rate of neutralizing antibodies to astrovirus VA1 in human populations. *mSphere.* 6: e0048421
37. Sato M *et al.* (2016). Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. *J. Clin. Virol.*, 78 (2016), pp. 66-70
38. Wilson MR *et al.* (2019). Clinical Metagenomic Sequencing for Diagnosis of Meningitis and Encephalitis. *N. Engl. J. Med.* 380: 2327–2340
39. Quan PL *et al.* (2010). Astrovirus encephalitis in boy with X-linked agammaglobulinemia. *Emerg. Infect Dis.* 16: 918–925
40. Naccache SN *et al.* (2015). Diagnosis of neuroinvasive astrovirus infection in an immunocompromised adult with encephalitis by unbiased next-generation sequencing. *Clin. Infect. Dis.* 60: 919-923
41. Frémond ML *et al.* (2015). Next-Generation sequencing for diagnosis and tailored therapy: a case report of astrovirus-associated progressive encephalitis. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 4: e53-e57

42. Lum SH *et al.* (2016). An emerging opportunistic infection: fatal astrovirus (VA1/HMO-C) encephalitis in a pediatric stem cell transplant recipient. *Transpl. Infect. Dis.* 18: 960–964
43. Król L *et al.* (2021). Astrovirus VA1/HMO encephalitis after allogeneic hematopoietic cell transplantation: Significant role of immune competence in virus control. *Pediatr. Blood Cancer.* 68: e29286
44. Bami S *et al.* (2022). Human Astrovirus VA1 encephalitis in pediatric patients with cancer: Report of 2 cases and review of the literature. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 11: 408–412
45. Maximova OA *et al.* (2023). Pathogenesis and outcome of VA1 astrovirus infection in the human brain are defined by disruption of neural functions and imbalanced host immune responses. *PLoS Pathog.* 19: e1011544
46. COGEM (2023). Advies pathogeniteitsclassificatie *Mamastrovirus 1* (humaan Astrovirus). COGEM advies CGM/230815-03