

**Stellungnahme der ZKBS zu Kriterien der Risikobewertung
von Viren mit einem ausschließlichen Wirtsbereich für Insekten
als Spender- oder Empfängerorganismus
gemäß § 5 Absatz 1 GenTSV**

I. Einleitung

Insekten können mit einer Vielzahl verschiedener Viren infiziert sein. Viren, die sich nur in Zellen von Insekten, nicht jedoch in Vertebraten, anderen Invertebraten und Pflanzen vermehren können, werden als insektenspezifische Viren (ISV) bezeichnet. Diese Viren zirkulieren daher ausschließlich in Insektenpopulationen.

Manche Insekten können als Vektoren dienen, die Viren auf Pflanzen oder Tiere und den Menschen übertragen. Im Menschen können solche sogenannten *arthropode-borne* (Arbo)-Viren oftmals zu schweren Krankheiten wie beispielsweise dem Dengue- oder Gelbfieber führen. Arboviren haben ihren evolutionären Ursprung oft in ISV. Auch aufgrund ihrer Bedeutung bei der evolutionären Entwicklung von Arboviren rücken ISV zunehmend in den Mittelpunkt von (gentechnischen) Forschungsvorhaben und bedürfen einer Risikobewertung [1]. Die vorliegende Stellungnahme befasst sich mit der Risikobewertung der ISV.

Bereits länger von Interesse sind ISV, wenn sie pathogen für ökonomisch relevante Nutzinsekten (wie Bestäubungsinsekten oder Seidenraupen) sind. Auch für Insekten aus dem Nahrungs- und Futtermittel-Bereich (*food-and-feed*, Insektenfarmen) können ISV eine wirtschaftliche Gefährdung darstellen. Andererseits werden einige Insektenviren (z. B. Baculoviren) auch zur Schädlingsbekämpfung in der Land- und Forstwirtschaft eingesetzt [2].

Bei der Klasse der Insekten (Phylum *Arthropoda*) handelt es sich um die größte Gruppe terrestrischer Tiere sowohl bezogen auf die Speziesvielfalt als auch auf die absolute Anzahl [3]. Dennoch schätzt man, dass etwa 80 % der Insektenspezies selbst bisher unbekannt sind und demnach auch die Viren, die sich in ihnen vermehren [3]. Während sich die herkömmliche Identifikation von Viren überwiegend auf solche konzentrierte, die pathogen für den Menschen oder kommerziell genutzte Tiere und Pflanzen sind, werden mit neueren Methoden der Metagenomanalyse zunehmend bisher nicht entdeckten Viren detektiert, die (bislang) nicht durch Krankheitssymptome in Erscheinung getreten sind und die mit den klassischen Isolationsmethoden nicht erfasst wurden [4]. Mittels *High Throughput*-Sequenzierung werden unzählige Nukleinsäureabschnitte von bis dahin unbekanntem Viren in den verschiedenen Wirten identifiziert und so wird zunehmend auch die enorme Menge und Diversität von ISV deutlich [4]. Eine umfangreiche Übersicht und taxonomische Klassifizierung von ISV sowie deren Eigenschaften und Risikobewertung stellte das niederländische Expertengremium *The Netherlands Commission on Genetic Modification* (COGEM), welches sicherheitsrelevante Fragestellungen mit Bezug zur Gentechnik behandelt, im Jahr 2019 zusammen [5].

Über die Biologie der mit neueren Methoden identifizierten Viren, wie deren Wirtsbereich, Pathogenität und Art der Übertragung, liegen meistens zunächst keine oder nur wenige Informationen vor. Oft handelt es sich um neue Spezies, die später gänzlich neuen Taxa zugeordnet werden [4, 6]. Für einen Großteil dieser bis dahin nicht anderweitig auffällig gewordenen Viren ist davon auszugehen, dass sie für ihren Wirt nicht pathogen sind, sondern möglicherweise sogar in Symbiose oder Kommensalismus mit den jeweiligen Insekten leben [4, 7, 8, 9, 10]. Daher erscheint es unverhältnismäßig, alle noch nicht vollumfänglich

charakterisierten Viren vorsorglich der Risikogruppe 2 zuzuordnen. Vor diesem Hintergrund benennt die vorliegende Stellungnahme der ZKBS allgemeine Kriterien für die Bewertung und Einstufung von ISV als Spender- oder Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten.

Generell gilt es zu verhindern, dass pathogene Insektenviren in eine Umwelt gelangen, in der sie natürlicherweise nicht vorkommen, sie dort aber in der Lage wären, Insekten zu befallen und durch ihre Ausbreitung Schäden in dieser Umwelt und dem Ökosystem zu verursachen. Für die Einordnung von ISV in Risikogruppen ist insbesondere entscheidend, ob bei einem Entweichen dieser Viren in die Umwelt eine Gefährdung von Nutzinsekten, z. B. durch eine signifikante Zunahme von Infektionsereignissen, zu erwarten ist. Als Nutzinsekten werden wirtschaftlich relevante Bestäubungsinsekten (wie z. B. Honigbienen und Hummeln) verstanden. Zukünftig können ggf. auch Insekten des *food-feed*-Marktes dazu zählen.

In Abwesenheit konkreter Daten kann für die Abschätzung einer möglichen Pathogenität auch der Verwandtschaftsgrad zu bekannten insektenpathogenen Viren herangezogen werden. Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass ISV möglicherweise nur während bestimmter Lebensstadien der Insekten eine pathogene Symptomatik entwickeln und auch, dass sich minimale pathogene Effekte in der Gesamtheit der Kolonie von staatenbildenden Insekten zu einem signifikanten Effekt aufsummieren können [11].

II. Einstufungskriterien der ZKBS

Folgend finden sich die Kriterien für die Einstufung von ISV als Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten:

1. ISV sind der **Risikogruppe 1** zuzuordnen, wenn

- Daten eine Apathogenität für potenzielle Wirtsinsekten belegen
- oder es bei Nachweis viraler Nukleinsäureabschnitte in komplexen Umweltproben/in Metagenomen von in Deutschland freilebenden Nutzinsekten keinen Hinweis auf eine Pathogenität der entsprechenden Viren gibt
- oder zwar eine Pathogenität für Nicht-Nutzinsekten vorliegt, die Viren jedoch bereits in Deutschland oder direkt angrenzenden Ländern verbreitet sind
- oder sie zur Familie der Baculoviren (*Baculoviridae*) gehören (ZKBS-Stellungnahme Az. 6790-05-02-41)
- oder ihre Nicht-Nutzinsekten-Wirte nicht in Deutschland oder direkt angrenzenden Ländern verbreitet sind
- oder Vektoren (z. B. eine Milbe), die zur Übertragung des Virus auf Nicht-Nutzinsekten ggf. notwendig sind, nicht in Deutschland oder direkt angrenzenden Ländern verbreitet sind

2. ISV sind in die **Risikogruppe 2** einzustufen, wenn

- sie pathogen für in Deutschland in freier Wildbahn vorkommende Nutzinsekten sind (wie z. B. das Flügeldeformationsvirus; ZKBS Az. 6790-05-01-81) oder Hinweise auf eine solche Pathogenität vorliegen
- eine Pathogenität für in Deutschland verbreitete Nicht-Nutzinsekten vorliegt UND die ISV in Deutschland noch nicht verbreitet sind, die ggf. für eine Übertragung notwendigen Vektoren jedoch schon

In Analogie zur allgemeinen Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung von animalen Viren der Risikogruppe 1 (Az. 6790-05-02-0075) wird für Viren, die an ein anderes Wirtssystem adaptiert werden, empfohlen zu prüfen inwieweit durch die Erweiterung des Wirtsbereichs das oben

genannte Einstufungskriterium für die **Risikogruppe 2** ggf. zutrifft und die Viren somit vorsorglich der **Risikogruppe 2** zuzuordnen sind.

Generell ist eine Erhöhung des Gefährdungspotenzials nicht auszuschließen, wenn Virulenzfaktoren in das Genom von ISV der **Risikogruppe 1** eingebracht werden oder genomische Veränderungen das Wirtsspektrum so verändern könnten, dass eine Pathogenität für die oben genannten Nutzinsekten nicht ausgeschlossen werden kann. Die Viren sind dann vorsorglich der **Risikogruppe 2** zuzuordnen.

III. Hinweise zu einzuhaltenden Sicherheitsmaßnahmen:

Bei gentechnischen Arbeiten mit insektenpathogenen Viren, deren Wirte in Deutschland und angrenzenden Ländern vorkommen, muss das Entweichen durch geeignete Maßnahmen zuverlässig verhindert werden und gemäß Anlage 2 A Sicherheitsstufe 1 und 2 GenTSV dem Eindringen von Überträgern von gentechnisch veränderten Organismen (z. B. Arthropoden) vorgebeugt werden. Dies kann z. B. durch folgende Maßnahmen gewährleistet werden:

- Absicherung von Öffnungen (z. B. Fenster, Türschlösser, Türspalten) mit Insektenschutzgaze, Bürsten oder Gummilippen
- Nicht zu öffnende Fenster
- Verwendung von Türschlössern mit Schließzylinder
- Kontrollierter Zutritt, abgesichert z. B. durch eine Luftdusche oder einen Insektenschutzvorhang
- Einfangen und Töten von im Labor aufgefundenen Insekten (Bereithalten von Insektengift, Aufstellen von Insektenfallen)

Literatur

1. **Carvalho VL & Long MT** (2021). Insect-Specific Viruses: An overview and their relationship to arboviruses of concern to humans and animals. *Virology* **557**:34-43.
2. **Nouri S et al.** (2018). Insect-specific viruses: from discovery to potential applications. *Curr Opin Virol* **33**:33-41.
3. **Stork NE** (2018). How many species of insects and other terrestrial arthropods are there on earth? *Annu Rev Entomol* **63**:31-45.
4. **Wu H et al.** (2020). Abundant and diverse RNA viruses in insects revealed by RNA-Seq analysis: ecological and evolutionary implications. *mSystems* **5**:e00039-20.
5. **COGEM** (2019). Characteristics and pathogenicity determination of insect-specific RNA and DNA viruses. COGEM Report: CGM 2019-01; Autor J.M. Vlak
6. **Bonning BC** (2019). The Insect Virome: Opportunities and Challenges; Kapitel 1 in Insect Molecular Virology: Advances and Emerging Trends. *Caister Academic Press* (1 June 2019). ISBN: 978-1-912530-08-3.
7. **Altinli M et al.** (2021). Symbiotic interactions between mosquitoes and mosquito viruses. *Front Cell Infect Microbiol*; -provisionally accepted- doi: 10.3389/fcimb.2021.694020
8. **Xu P et al.** (2014). Dengovirus is a mutualistic symbiont of a global crop pest (*Helicoverpa armigera*) and protects against a baculovirus and Bt biopesticide. *PLoS Pathog* **10**:e1004490.
9. **Ryabov EV et al.** (2009). Dengovirus induces winged morphs in asexual clones of the rosy apple aphid, *Dysaphis plantaginea*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:8465–70.

10. **Varghese FS & van Rij RP** (2018). Insect virus discovery by metagenomic and cell culture-based approaches. *Methods Mol Biol* **1746**:197–213.
11. **Manley R et al.** (2015). Emerging viral disease risk to pollinating insects: ecological, evolutionary and anthropogenic factors. *J Appl Ecol* **52**:331–40.