

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw W.J. Mansveld
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 18 januari 2013
KENMERK CGM/130118-01
ONDERWERP Advies: Classificatie van en inschaling werkzaamheden met Influenza B virus

Geachte mevrouw Mansveld,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende een wijzing van de vergunning IG 99-090 met als titel 'Onderzoek naar Influenza virus' van het Erasmus MC, deelt de COGEM u het volgende mee:

Samenvatting

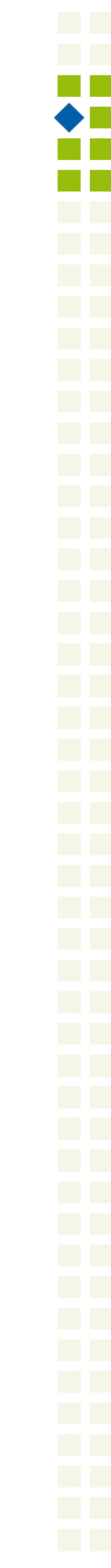
De COGEM is gevraagd te adviseren over de classificatie van het *Influenza B virus* (FLUBV). Daarnaast is zij verzocht advies uit te brengen over de inschaling van laboratorium-werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-)FLUBV.

De aanvrager wil voor zijn onderzoek zowel wildtype gg-FLUBV deeltjes produceren als gg-FLUBV deeltjes waarvan het HA-eiwit is gemodificeerd. Met dit onderzoek hoopt de aanvrager mogelijkheden te ontdekken om de werking van griepvaccins te kunnen verbeteren.

Het FLUBV komt voornamelijk voor in mensen, maar is ook enkele malen aangetroffen in zeehonden en oorrobben. Er is echter geen dierreservoir bekend. Het FLUBV geeft over het algemeen een mild ziektebeeld en het is endemisch in Nederland aanwezig. Het FLUBV verspreidt zich net als het *Influenza A virus* (FLUAV) efficiënt onder de bevolking via aerogene transmissie. Er is een vaccin beschikbaar tegen het FLUBV en een infectie kan behandeld worden met antivirale middelen. Op basis van deze bovenstaande eigenschappen adviseert de COGEM FLUBV in pathogeniteitsklasse 2 in te delen.

Gebaseerd op bovenstaande classificatie adviseert de COGEM de *in vitro* werkzaamheden met het gg-FLUBV op ML-II inperkingsniveau uit te voeren. Aanvullend adviseert zij daarbij dezelfde voorschriften te hanteren als voor werkzaamheden met laagpathogene gg-FLUAV deeltjes. De COGEM adviseert voor de *in vivo* werkzaamheden met gg-FLUBV in combinatie met muizen minimaal een DM-II inperkingsniveau met aanvullende voorschriften. Tegen deze achtergrond en gezien de extra luchtbehandelingsmaatregelen heeft de COGEM geen bezwaar als de werkzaamheden in associatie met fretten, zoals door de aanvrager wordt verzocht, op DM-III inperkingsniveau uitgevoerd worden. Op genoemde inperkingsniveau's en onder navolging van de aanvullende voorschriften acht de COGEM de risico's verbonden aan voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Voorts signaleert de COGEM dat, sinds de maatschappelijke onrust die vorig jaar is ontstaan rond de biosecurity van het FLUAV, dit het eerste COGEM advies is dat wordt uitgebracht over werkzaamheden met een soortgelijk griepvirus en dat dit mogelijk tot vragen kan leiden vanuit de samenleving. Gezien de kenmerken van (gg-)FLUBV kunnen experimenten op een lager risiconiveau worden uitgevoerd dan die met het eerder genoemde FLUAV. Eenzelfde maatschappelijke onrust als die van vorig jaar zou dan ook niet op zijn plaats zijn.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau GGO
Dr. I. van der Leij, Ministerie van IenM

Met het oog op eventuele belangverstrengelingen is het COGEM lid prof. dr. R.A.M. Fouchier niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Classificatie van *Influenza B virus* en inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd *Influenza B virus*

COGEM advies CGM/130118-01

Inleiding

De COGEM is door het ministerie van Infrastructuur en Milieu gevraagd te adviseren over de classificatie van het *Influenza B virus* (FLUBV) en de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-)FLUBV. De aanvrager, het Erasmus MC wil met behulp van reverse genetics seizoensgebonden influenza B virussen vervaardigen en zowel *in vitro* als *in vivo* bestuderen. Het onderzoek richt zich daarbij met name op de interactie van het HA eiwit van FLUBV met het immuunsysteem.

Influenza B virus

Het influenzavirus, in de volksmond beter bekend als griepvirus, behoort tot de familie van *Orthomyxoviridea* en wordt onderverdeeld in drie genera, te weten *Influenzavirus A*, *B* en *C*. Daarnaast worden ook de genera *Thogotovirus* en *Isavirus* tot deze familie gerekend.¹ Het genus *Influenzavirus B* bevat één species, het zogenaamde *Influenza B virus* (FLUBV). Dit type virus is voor het eerst geïsoleerd in 1940 en veroorzaakt regelmatig epidemieën. Net als *Influenza A virus* (FLUAV) veroorzaakt het FLUBV de voor griep kenmerkende verschijnselen als koorts, hoofdpijn, spierpijn, keelpijn en hoesten. Een FLUBV infectie resulteert in ziekte in met name kinderen en jong volwassenen.² Maar in sommige epidemieën treft het FLUBV ook de ouderen.^{2,3} In tegenstelling tot FLUAV veroorzaakt het FLUBV geen pandemieën. Opmerkelijk is de observatie dat virusisolaten afkomstig van patiënten die hun huisarts bezochten met griepklachten, voornamelijk FLUBV betreffen, terwijl de virusisolaten afkomstig van patiënten die opgenomen waren in het ziekenhuis hoofdzakelijk FLUAV's betreffen.⁴ Dit suggereert dat het FLUAV over het algemeen een ernstigere ziekte veroorzaakt dan het FLUBV.

Het FLUBV infecteert hoofdzakelijk mensen en vormt geen bedreiging voor (pluim)vee. Er is toenemend bewijs dat FLUBV ook voorkomt in zeehonden en oorrobber.^{5,6} Op dit moment is er echter geen dierreservoir vastgesteld voor FLUBV.

Een infectie met een FLUBV kan behandeld worden met antivirale middelen, zoals zanamivir, hoewel er af en toe een FLUBV wordt geïdentificeerd die resistent is tegen deze antivirale middelen.⁷ Tegenwoordig bevatten de griepvaccins naast twee FLUAV componenten, standaard één FLUBV component.⁸

Het FLUAV wordt onderverdeeld in verschillende subtypen op basis van de antigene verschillen tussen de oppervlakte eiwitten hemagglutinine en neuraminidase. Daarentegen is er voor het FLUBV slechts 1 subtype bekend alhoewel er wel twee antigeen verschillende lijnen worden onderscheiden. Het betreft de B/Victoria lijn, die wereldwijd circuleerde in de jaren '80 en de B/Yamagata lijn, die dominant aanwezig was in de eerste helft van de 90-er jaren.^{9,10}

Genomische organisatie van Influenza B virus

Het FLUBV heeft een negatief-strengig RNA genoom dat bestaat uit acht unieke genoomsegmenten. Het genoom codeert voor elf verschillende eiwitten. Dit zijn de polymerase eiwitten PB1, PB2 en PA, hemagglutinine (HA), nucleoproteïne, neuraminidase (NA), een membraan eiwit, een matrix eiwit, een ion-kanaal en de niet-structurele eiwitten NS1 en NS2. Net zoals het geval is voor het FLUAV, spelen de HA en NA eiwitten van FLUBV een belangrijke rol bij de gastheerspecificiteit en de aanmaak van antistoffen tegen het virus.¹¹

Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil op basis van laagpathogene FLUBV veldisolaten met behulp van reverse genetics gg-FLUBV deeltjes vervaardigen. Daartoe worden acht plasmiden die coderen voor de acht influenza gensegmenten getransfecteerd in animale cellen.¹² Naast de productie van wildtype gg-FLUBV deeltjes, is de aanvrager ook van plan gg-FLUBV deeltjes te creëren, waarvan de HA eiwitten gemuteerd zijn. Het betreft mutaties in potentiële glycosyleringsmotieven in het HA eiwit om glycosylering van het HA eiwit te voorkomen. Deze glycosylering speelt een rol bij de interactie tussen het FLUBV en zowel de aangeboren immuniteit als de humorale immuunrespons. Afgezien van de vervaardiging en karakterisering van betreffende FLUBV deeltjes *in vitro*, zullen de FLUBV deeltjes ook met behulp van muizen en fretten onderzocht worden. Er zullen geen chimere virussen worden vervaardigd van de verschillende FLUBV veldisolaten of van FLUBV en andere influenzavirussen.

Classificatie

De inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen is mede afhankelijk van de pathogeniteitsklasse van het organisme. Daartoe is het voor een correcte inschaling van de werkzaamheden van belang te weten tot welke pathogeniteitsklasse een organisme behoort. Volgens de 'Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen' worden micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen.¹³ 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. De criteria voor indeling in pathogeniteitsklassen zijn als volgt gedefinieerd:

- Een indeling in **pathogeniteitsklasse 1** is van toepassing op een micro-organisme dat in ieder geval voldoet aan een van de volgende voorwaarden:
 - het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
 - het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
 - 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;

- van het micro-organisme is het niet-virulente karakter middels adequate tests aangetoond.
- Een indeling in **pathogeniteitsklasse 2** is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat die zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat, alsmede een micro-organisme dat bij planten of dieren ziekte kan veroorzaken.
- Een indeling in **pathogeniteitsklasse 3** is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat die zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat.
- Een indeling in **pathogeniteitsklasse 4** is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de bevolking verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding bestaat.

Door de ‘Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit’ en de ‘Public Health Agency of Canada’ wordt FLUBV geclassificeerd als een klasse 2 pathogeen.^{14,15} Door de ‘Belgian Biosafety Server’ wordt FLUBV als humaan pathogeen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, maar als dierpathogeen in pathogeniteitsklasse 3.¹⁶

Eerder COGEM advies

In de Regeling ggo en de Richtlijnen van de COGEM bij deze Regeling uit 1998 waren de *Orthomyxoviridae*, waartoe het FLUBV behoort, ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.¹⁷ De aviaire virulente stammen (FLUAV) waren hiervan uitgezonderd. De COGEM heeft nooit een specifiek advies uitgebracht over de classificatie van FLUBV.

Laboratoriumwerkzaamheden met Influenza A virus

De COGEM heeft verschillende malen geadviseerd over de classificatie van en de inschaling van werkzaamheden met FLUAV. In 2006 heeft de COGEM een generiek advies uitgebracht over de inschaling en bijbehorende aanvullende voorschriften van laboratoriumwerkzaamheden met zowel hoogpathogene als laagpathogene FLUAV stammen.¹⁸

De werkzaamheden met hoogpathogene FLUAV’s adviseerde zij op ML-III inperkingsniveau in te schalen onder toevoeging van de volgende aanvullende voorschriften:

- open handelingen moeten plaatsvinden in een klasse-II veiligheidskabinet,
- medewerkers dienen gevaccineerd te zijn,
- medewerkers met griepsymptomen dienen uitgesloten te worden van deelname aan de werkzaamheden,
- het dragen van handschoenen is verplicht,
- bij werkzaamheden met H7 gg-influenzavirussen is een beschermende bril verplicht,

- het dragen van een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) is verplicht.

De werkzaamheden met laagpathogene FLUAV's heeft de COGEM ingeschaald op ML-II inperkingsniveau onder toevoeging van onderstaande aanvullende voorschriften:

- open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II,
- medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden,
- het dragen van handschoenen is verplicht,
- medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn.

Op basis van het in 2005 uitgebrachte COGEM advies 'Pathogeniteitstudies met recombinante Influenza A virussen' dienen daar voor de productie van gg-FLUAV op kippeneieren de volgende aanvullende voorschriften aan toegevoegd te worden.¹⁹

- geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed,
- de dozen worden uitsluitend geopend in een veiligheidskabinet klasse-II. Bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

Werkzaamheden met influenza A virus in associatie met proefdieren

Handelingen met proefdieren in associatie met hoogpathogene gg-FLUAV stammen heeft de COGEM in 2007 geadviseerd op inperkingsniveau DM-III in te schalen en de dieren in onderdrukisolatoren te huisvesten.²⁰

Handelingen met proefdieren in associatie met laagpathogene gg-FLUAV stammen heeft de COGEM geadviseerd op DM-II inperkingsniveau in te schalen onder navolging van de volgende aanvullende voorschriften:²¹

- Dieren worden gehuisvest in filtertopkooien,
- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II,
- Het dragen van handschoenen is verplicht,
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden,
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen.

Overweging en advies

Classificatie van Influenza B virus

Zoals aangegeven, wordt in Nederland de pathogeniteitsklasse van micro-organismen bepaald op basis van de aard van de ziekte, de verspreiding onder de bevolking en de aanwezigheid van effectieve profylaxe of behandeling.

Het FLUBV komt voornamelijk voor in mensen en veroorzaakt de voor de griep kenmerkende verschijnselen. Op basis van ervaring is de aanvrager van mening dat het FLUBV als laagpathogeen beschouwd kan worden en stelt dat het niet hoogpathogeen kan worden. De COGEM beaamt dat de door FLUBV veroorzaakte ziekte een milder verloop lijkt te hebben dan het geval is na een infectie met FLUAV. Bovendien constateert zij dat er tot op heden geen hoogpathogene FLUBV's zijn geïdentificeerd. In theorie zou er een hoogpathogeen chimeer virus kunnen ontstaan na het reassorteren van FLUAV en FLUBV. Uit wetenschappelijk onderzoek is echter gebleken dat genetische reassortering tussen beide virussen in de praktijk niet mogelijk is.²²

In Nederland komt FLUBV algemeen voor onder de bevolking en kan derhalve worden beschouwd als een endemisch virus. Het is een virus dat wordt verspreid via aerogene transmissie en heeft sinds identificatie van dit virus in 1940 geen pandemie veroorzaakt. Er zijn vaccins beschikbaar en een infectie is te behandelen met antivirale middelen.

Met het oog op bovenstaande aspecten adviseert de COGEM FLUBV in pathogeniteitsklasse 2 in te schalen.

Effect van modificaties

Naast werkzaamheden met recombinant wildtype FLUBV, is de aanvrager ook van plan gg-FLUBV te creëren waarvan de glycosyleringsplaatsen van het HA eiwit zijn gemodificeerd. Het HA eiwit is een belangrijk aangrijpingspunt voor de immuunrespons tegen het influenzavirus. Het zogenaamde surfactant protein D (SP-D), dat een onderdeel is van de aangeboren immuniteit, bindt aan de glycanen op het HA eiwit. Zoals blijkt uit een studie van Vigerust *et al.* is de mate van glycosylering van het HA-eiwit van het FLUAV H3N2 van invloed op de virulentie.^{23,24} De COGEM kan derhalve niet uitsluiten dat door de voorgenomen de-glycosylering van het HA-eiwit de 'neutralisatie' van het FLUBV door de aangeboren afweer vermindert.

Het HA-eiwit is ook een aangrijpingspunt voor de humorale afweer. In tegenstelling tot de binding van het SP-D wordt de binding van antilichamen juist bemoeilijkt door de glycosylering van het HA-eiwit.²⁵ In het geval van de voorgenomen de-glycosylering van het HA-eiwit verwacht de COGEM derhalve dat de neutraliserende werking van antilichamen tegen het FLUBV zal toenemen.

Het HA-eiwit speelt ook een centrale rol in de herkenning en binding van gastheercellen. Uit de wetenschappelijke literatuur blijkt dat glycosylering van het HA-eiwit in de nabijheid van de receptorbindingpocket van belang is voor de interactie van influenzavirussen met de gastheercellen.^{26,27} De COGEM is van mening dat modificatie van deze glycosyleringsplaatsen van invloed kan zijn op het gastheerbereik van FLUBV. Doordat de aanvrager met beoogde modificaties slechts de-glycosylering nastreeft, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat het gastheerbereik door voorgenomen modificaties van het HA-eiwit zal toenemen. Bovendien zouden de voorgenomen aan te brengen mutaties hoogstwaarschijnlijk van nature in het FLUBV voorkomen als deze daadwerkelijk fitness verhogend zouden zijn.

Op basis van bovenstaande overwegingen acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat de voorgenomen modificaties in het HA-eiwit de pathogeniteit van het FLUBV zullen verhogen.

Inschaling van de productie van gg-FLUBV

Conform de inschaling van FLUBV in pathogeniteitsklasse 2 en het effect van de voorgenomen modificatie van het HA-eiwit op de pathogeniteit van het gg-virus adviseert de COGEM de voorgenomen productie van gg-FLUBV op ML-II inperkingsniveau uit te voeren. In lijn met haar eerdere advies voor werkzaamheden met laagpathogene FLUAV stammen adviseert zij daarbij de volgende aanvullende voorschriften te hanteren:

- Open handelingen moeten uitgevoerd worden in een veiligheidskabinet klasse-II,
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden,
- Het dragen van handschoenen is verplicht,
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf tegen FLUBV gevaccineerd te zijn.

Specifiek voor werkzaamheden met kippeneieren voegt de COGEM daar de volgende voorschriften aan toe:

- Geïnfekteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed,
- De dozen worden uitsluitend geopend in een veiligheidskabinet klasse-II. Bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

De COGEM is van mening dat door naleving van bovengenoemde voorschriften de kans op verspreiding van gg-FLUBV en de daarmee geassocieerde kans op 'reassortment' (uitwisseling van genomsegmenten tussen wildtype virus en gg-virus) wordt geminimaliseerd.

Inschaling van in vivo werkzaamheden

Conform de inschaling van FLUBV in pathogeniteitsklasse 2 is de COGEM van mening dat de werkzaamheden met muizen in associatie met gg-FLUBV ingeschaald kunnen worden op DM-II inperkingsniveau. In overeenstemming met soortgelijke werkzaamheden met laagpathogeen FLUAV adviseert zij daarbij de volgende aanvullende voorschriften te hanteren:

- Dieren worden gehuisvest in filtertopkooien,
- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II,
- Het dragen van handschoenen is verplicht,
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden,
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen.

De aanvrager verzoekt de werkzaamheden met fretten in associatie met gg-FLUBV uit te mogen voeren op DM-III inperkingsniveau. De dieren zullen daarbij gehuisvest worden in een

onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter. De COGEM is van mening dat aerogene verspreiding van gg-FLUBV voorkomen moet worden om de veiligheid van medewerkers en het milieu te kunnen waarborgen. Een DM-II inperking met gestelde aanvullende voorschriften acht zij daarvoor afdoende. In een DM-III laboratorium heerst onderdruk en wordt de lucht HEPA-gefilterd voordat het de ruimte verlaat. Een DM-III laboratorium is hierdoor beter toegerust om aerogene verspreiding te voorkomen dan een DM-II laboratorium. De COGEM heeft derhalve geen bezwaar tegen een inschaling van voorgenomen werkzaamheden met fretten op DM-III inperkingniveau en de voorgestelde huisvesting van de fretten in een onderdrukisolator.

Inschaling van werkzaamheden met cellen en weefsels van dieren in associatie met gg-FLUBV

Conform de Regeling ggo adviseert de COGEM de handelingen met cellen en weefsels afkomstig uit bovenstaande dierexperimenten op ML-II inperkingsniveau in te schalen. Om de kans op verspreiding te minimaliseren adviseert zij daarbij de volgende aanvullende voorschriften te hanteren:

- Open handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden,
- Het dragen van handschoenen is verplicht,
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf tegen FLUBV gevaccineerd zijn
- Medewerkers die griepsymptomen vertonen worden uitgesloten van de werkzaamheden.

Onder genoemde inperkingsniveau's en de aanvullende voorschriften acht de COGEM de risico's van deze handelingen voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Signalering

Sinds de maatschappelijke onrust die vorig jaar is ontstaan rond de biosecurity van het FLUAV is dit het eerste COGEM advies dat wordt uitgebracht over werkzaamheden met een soortgelijk griepvirus dat tot dezelfde familie behoort als het FLUAV. De COGEM wijst erop dat dit advies mogelijk tot vragen kan leiden vanuit de samenleving. De COGEM merkt hierbij op dat het FLUBV al geruime tijd onder de bevolking circuleert en dat het sinds zijn identificatie in 1940 geen hoogpathogene virussen heeft voortgebracht. Het betreffende onderzoek zal bovendien plaatsvinden met FLUBV stammen die van nature voorkomen, de zogenaamde veldisolaten. Daarnaast blijkt uit wetenschappelijk onderzoek dat FLUAV en FLUBV niet kunnen reassorteren wat in theorie zou kunnen leiden tot een verandering van de pathogeniteit. Mede gezien deze kenmerken kunnen experimenten op een lager risiconiveau worden uitgevoerd dan die met het eerder genoemde FLUAV. Eenzelfde maatschappelijke onrust als die van vorig jaar zou dan ook niet op zijn plaats zijn.

Referenties

1. McCauley JW *et al.* (2012). The Negative Sense Single Stranded RNA viruses; family Orthomyxoviridae. In: Virus Taxonomy, ninth report of the international committee on taxonomy of viruses. Edited by King AMQ *et al.* Elsevier Academic Press, Amsterdam 749-61

2. Thompson WW *et al.* (2003) Mortality associated with influenza and respiratory syncytial virus in de United States. JAMA 289: 179-86
3. Ohmit SE *et al.* (1995). Influenza vaccin effectiveness in preventing hospitalization among the elderly during influenza type A en type B seasons. Int J. Epidemiol. 24: 140-8
4. Claas EC *et al.* (1995). Influenza types and patient population. Lancet 346: 180
5. Osterhaus ADME *et al.* (2000). Influenza B virus in Seals. Science 288: 1051-3
6. Blanc A *et al.* (2009). Serologic evidence of Influenza A and B viruses in South American fur seals (*Arctocephalus australis*) J Wildlife dis. 45: 519-21
7. CDC Antiviral Drug-resistance among Influenza viruses
<http://www.cdc.gov/flu/professionals/antivirals/antiviral-drug-resistance.htm> (16 januari 2013)
8. Belshe RB (2010). The need for quadrivalent vaccine against seasonal influenza. Vaccine 28 suppl 4: D45-53
9. Shaw MW *et al.* (2002). Reappearance and global spread of variants of influenza B/Victoria/2/87 lineage viruses in the 2000-2001 and 2001-2002 seasons. Virology 303:1-8
10. McCullers J *et al.* (2004). Multiple genotypes of influenza B virus circulated between 1979 and 2003 J. Vir. 23: 12817-28
11. Brown EG *et al.* (2000). Influenza virus genetics. Biomed Pharmacother 54: 196-209
12. Hoffman E *et al.* (2002). Rescue of influenza B virus from eight plasmids . PNAS 99: 11411-6
13. VROM (2004). Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen
14. Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (2009). Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten
http://www.opbw.org/nat_imp/leg_reg/germ/Org_GeneticWork.pdf (10 januari 2013)
15. Public Health Agency of Canada. <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/hepe-eng.php> (10 januari 2013)
16. Belgian Biosafety Server http://www.biosafety.be/PDF/2009_classification_lists/H_A_virus.pdf (10 januari 2013)
17. VROM (2004). Regeling genetisch gemodificeerde organismen en Richtlijnen van de COGEM bij deze regeling
18. COGEM (2006). Aanvullende voorschriften bij werkzaamheden met genetisch gemodificeerde influenza A virussen. CGM/061214-01
19. COGEM (2005). Pathogeniteitsstudies met recombinante Influenza A virussen. CGM/050201-01
20. COGEM (2007). Pathogenese en transmissie van influenzavirussen. CGM/070515-01
21. COGEM (2007). Aanvullende voorschriften bij handelingen met genetisch gemodificeerde influenza A virussen. CGM/070328-01
22. Ghenkina DB & Ghendon YZ (1979). Recombination and complementation between orthomyxoviruses under conditions of abortive infection Acta Virol. 23: 97-106
23. Vigerust DJ *et al.* (2007). N-linked glycosylation attenuates H3N2influenza viruses. J Vir. 81: 8593-600

24. Hillaire MLB *et al.* (2012). The number and position of N-linked glycosylation sites in the hemagglutinin determine differential recognition of seasonal and 2009 pandemic H1N1 influenza virus by porcine surfactant protein D. *Virus Res.* 169: 301-5
25. Abe Y *et al.* (2004). Effect of the addition of oligosaccharides on the biological activities and antigenicity of influenza A/H3N2 virus hemagglutinin. *J. Vir.* 78: 9605-11
26. Jayaraman A *et al.* (2012). Glycosylation at Asn⁹¹ of H1N1 haemagglutinin affects binding to glycan receptors. *Biochem. J.* 444: 429-35
27. Vigerust DJ & Shepherd VL (2007). Virus glycosylation: role in virulence and immune interactions. *Trends in Microbiol.* 15: 211-8