

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

**DATUM** 28 mei 2013  
**KENMERK** CGM/130528-01  
**ONDERWERP** Advies: Classificatie bofvirus

Geachte mevrouw Mansveld,


Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende een wijzigingsverzoek van vergunning IG 01-287 met de titel 'Onderzoek aan mazelenvirus' van het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is verzocht te adviseren over de classificatie van het bofvirus. De aanvrager wil door middel van *in vitro* werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) bofvirussen onderzoeken of het virus als modelsysteem voor onderzoek naar het mazelenvirus kan dienen. De COGEM is verder verzocht te adviseren over de inschaling van deze werkzaamheden.

Het bofvirus komt alleen voor bij mensen en kan geen dieren infecteren. Infectie geeft meestal een mild ziektebeeld en het virus komt algemeen voor in Nederland. Het virus is zeer besmettelijk en verspreidt zich via de luchtwegen. Er is een vaccin beschikbaar en vaccinatie tegen het bofvirus is onderdeel van het Rijksvaccinatieprogramma. Vóór de introductie van vaccinatie was de bof een typische kinderziekte. De laatste jaren zijn er ondanks vaccinatie enkele uitbraken geweest onder studenten en sinds december 2008 geldt een meldingsplicht voor deze ziekte. Gezien de milde ziekteverschijnselen en de aanwezigheid van een vaccin adviseert de COGEM bofvirus in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

In experimenten met het gg-bofvirus zullen dierlijke cellen gebruikt worden. Op grond van de inschaling van het bofvirus in pathogeniteitsklasse 2 adviseert de COGEM de voorgestelde werkzaamheden uit te voeren op ML-II inperkingsniveau. De COGEM acht de risico's voor mens en milieu onder het genoemde inperkingsniveau en onder navoring van de aanvullende voorschriften bij de voorgenomen werkzaamheden met gg-bofvirus voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.



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 belangenverstrengelingen is het COGEM lid Prof. dr. R.A.M. Fouchier niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.*

# Classificatie van bofvirus

## COGEM advies CGM/130528-01

### Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de classificatie van het bofvirus en de inschaling van *in vitro* werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) bofvirussen. Het Erasmus Universitair Medisch Centrum vraagt een wijziging van vergunning IG 02-287 met de titel 'Onderzoek aan mazelenvirus'. Het wijzigingsverzoek betreft het toevoegen van een drietal gg-bofvissen aan de bestaande vergunning. De aanvrager wil met deze recombinante bofvirussen onderzoeken of het bofvirus kan dienen als modelsysteem voor het onderzoek naar het verwante mazelenvirus.

### Bofvirus

Het bofvirus (*Mumps virus*) behoort tot het genus *Rubulavirus* en de familie van de *Paramyxoviridae*. Andere leden van dit genus zijn *Human parainfluenza virus 2* en *4*, *Marapuera virus*, *Parainfluenza virus 5*, *Porcine rubulavirus* en *Simian virus 41*.<sup>1</sup>

Het virus infecteert alleen mensen, en kent geen dierlijk reservoir. Het virus kent 13 verschillende genotypen (A - M) en infecteert de bovenste luchtwegen, waarna het zich vermenigvuldigt in het luchtwegepitheel en de regionale lymfklieren. In de meeste gevallen levert infectie met het bofvirus geen of milde klinische symptomen op. De meest in het oog springende klacht is een ontsteking van de oorspeekselklier (parotitis). Bij mannen wordt sporadisch ontsteking van de testikels (orchitis) waargenomen. De gevaarlijkste complicaties zijn meningitis en encefalitis. Deze complicaties komen in gevaccineerde patiënten bijna niet voor, maar zijn niet uitgesloten. Sinds 1987 is vaccinatie tegen het bofvirus (BMR) onderdeel van het Rijksvaccinatieprogramma, vaccinatie geeft bescherming bij ongeveer 90% van de personen.<sup>2</sup> Ondanks dat er alleen gevaccineerd wordt met bofvirus genotype A worden voldoende neutraliserende antichamen tegen de genotypen B - M geproduceerd.<sup>3</sup> Terwijl de immuniteit na een natuurlijke bofvirusinfectie waarschijnlijk levenslang aanhoudt, dalen de door vaccinatie opgewekte antistoftiters geleidelijk. Doordat mensen langere tijd na vaccinatie niet meer volledig beschermd zijn, is er de laatste jaren een verandering in de epidemiologie van de bof. Voor vaccinatie was de bof een typische kinderziekte, terwijl deze nu in de leeftijdsgroep van studenten wordt gezien. De gezamenlijke activiteiten, zoals feesten, zorgen voor verspreiding van het virus. Het bofvirus wordt overgedragen via de luchtwegen (hoesten, niezen), en is zeer besmettelijk.<sup>4</sup> Sinds december 2008 geldt er een meldingsplicht voor de bof.

### Genomische organisatie

Het bofvirusdeeltje wordt omgeven door een lipidenmembraan en heeft een negatief enkelstrengs RNA genoom. Het RNA codeert voor verschillende eiwitten hemagglutinin-neuraminidase (NH), het fusie-eiwit (F), het nucleocapside eiwit (N), het matrix eiwit (M) en het polymerase eiwit (L). Het V eiwit en het 'phospho-eiwit' (P) worden afgelezen vanaf hetzelfde gen, maar bij P is door co-transcriptionele toevoeging van twee Guanine residuen een 'frameshift' ontstaan, waardoor in een ander leesraam verder gelezen wordt. Het N eiwit bindt het RNA genoom en vormt het nucleocapside. De L en P eiwitten zijn verantwoordelijk voor transcriptie en replicatie van het genoom. De

glycoproteïnes HN en F bevinden zich in het lipidenmembraan en zorgen voor verankering aan en fusie met de gastheer. Het V eiwit zorgt voor het omzeilen van de aspecifieke afweer van de gastheer.<sup>5,6</sup>

### **Voorgenomen werkzaamheden**

De aanvrager is voornemens gebruik te maken van een drietal gg-bofvirussen. rMuV-JL5 is afgeleid van, en gelijk aan, een component van het huidige BMR vaccin. rMuV-G09 is afgeleid van een bofvirus dat in 2009 in New York circuleerde. Door in rMuV-09 een additionele transcriptie-unit toe te voegen met het marker gen voor Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) als derde gen op het RNA genoom is het rMuV-09-EGFP[3] verkregen.

Het voornaamste doel van de voorgenomen werkzaamheden is het gebruik van het bofvirus als modelsysteem voor onderzoek naar het nauw verwante mazelenvirus. De aanvrager wil de werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau uitvoeren met de volgende aanvullende maatregelen: open werkzaamheden zullen uitgevoerd worden in een klasse II veiligheidskabinet en het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht. Daarnaast geeft de aanvrager aan dat medewerkers die met het bofvirus in aanraking komen ofwel recent gevaccineerd moeten zijn, ofwel aantoonbaar (op basis van bofvirus-specifieke IgG antistoffen) een natuurlijke bofinfectie hebben doorgemaakt.

### **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.<sup>7</sup> 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 'Belgian Biosafety Server', het Duitse 'The Federal Institute for Occupational Safety and Health', de Canadese 'Human Pathogens and Toxins Act' en de Amerikaanse 'NIH Office of Biotechnology Activities' is dit virus ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.<sup>8,9,10,11</sup>

### Eerder COGEM advies

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over werkzaamheden met gg-bofvirus. Wel heeft de COGEM eerder geadviseerd over andere virussen uit het genus *Rubulavirus*, *Human parainfluenza virus 2* en *4* en *Parainfluenza virus 5* en deze ingeschaald in pathogeniteitsklasse 2.<sup>12</sup>

### Overweging en advies

#### *Classificatie van bofvirus*

Bofvirus is een zeer besmettelijk endemisch virus dat zich verspreidt via aerosolen uit neus- en keelholte. Het virus veroorzaakt een veelal mild verloopende infectie. Voor dit virus bestaat populatie-immuniteit, hetzij door natuurlijke infectie, hetzij verworven door vaccinatie. Verspreiding onder niet-gevaccineerde personen is waarschijnlijk, vooral in gebieden waar de vaccinatiegraad laag is. Gezien de relatief hoge vaccinatiegraad van de Nederlandse bevolking is brede verspreiding onwaarschijnlijk maar individuele gevallen kunnen wel voorkomen.

Op basis van ziektebeeld, verspreiding en profylaxe adviseert de COGEM het bofvirus in te delen in pathogeniteitsklasse 2.

#### *gg-bofvirus*

Tijdens de werkzaamheden zullen drie gg-bofvirussen (waarvan één variant EGFP tot expressie brengt) gebruikt worden voor de infectie van animale cellen. Er is geen reden om aan te nemen dat het genetisch gemodificeerde virus dat EGFP tot expressie brengt of de andere gg-bofvirussen een verhoogde pathogeniteit zullen hebben ten opzichte van het wild-type virus.

Op grond van de inschaling van het bofvirus in pathogeniteitsklasse 2 adviseert de COGEM de werkzaamheden betreffende gg-bofvirus-stammen rMuV-JL5, rMuV-G09 en rMuV-09-EGFP[3] op ML-II inperkingsniveau in te schalen en daarbij de volgende aanvullende maatregelen te hanteren.

- Open handelingen moeten in een klasse II veiligheidskabinet uitgevoerd worden.
- Het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht.

- Op basis van analyse van bofvirus-specifieke IgG antistoffen moet vastgesteld zijn dat de medewerkers voldoende beschermd zijn tegen bofvirusinfectie.

Onder dit inperkingsniveau en onder navolging van de aanvullende voorwaarden is de COGEM van mening dat de risico's bij de voorgenomen werkzaamheden met gg-bofvirus voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

## Referenties

1. King AMQ *et al.* (editors) (2012). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego, Elsevier Academic Press
2. Mclean HQ *et al.* (2010). Mumps. World Health Organization
3. Rubin SA *et al.* (2012). Recent mumps outbreaks in vaccinated populations: no evidence of immune escape. *J Virol.* 86(1):615-20
4. Opstelten W *et al.* (2012). Bof, terug van weggeweest. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 2012;156:A5187
5. Rubin S & Vandermeulen C (2011). Mumps virus. *Uit: The biology of Paramyxoviruses* 5-36, Norfolk, UK, Caister Academic Press
6. Chambers P *et al.* (2009). Molecular differences between two Jeryl Lynn mumps virus vaccine component strains, JL5 and JL2. *J Gen Virol.* 90:2973-81
7. VROM (2004). Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen
8. Belgian Biosafety Server [http://www.biosafety.be/PDF/2009\\_classification\\_lists/H\\_A\\_virus.pdf](http://www.biosafety.be/PDF/2009_classification_lists/H_A_virus.pdf) (20 februari 2013)
9. The Federal Institute for Occupational Safety and Health (BauA). [http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?\\_\\_blob=publicationFile&v=4](http://www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/TRBA/pdf/TRBA-462.pdf?__blob=publicationFile&v=4) (20 februari 2013)
10. Department of Justice, Canada. Human Pathogens and Toxins Act (S.C. 2009, c. 24) <http://lois-laws.justice.gc.ca/eng/acts/H-5.67/FullText.html#h-7> (20 februari 2013)
11. NIH Office of Biotechnology Activities [http://oba.od.nih.gov/oba/rac/Guidelines/NIH\\_Guidelines\\_prn.pdf](http://oba.od.nih.gov/oba/rac/Guidelines/NIH_Guidelines_prn.pdf) (4 maart 2013)
12. COGEM (2001). Onderzoek aan humaan metapneumovirus (hMPV). COGEM advies CGM/011212-01