

Aan de minister van  
Volkshuisvesting, Ruimtelijke  
Ordening en Milieubeheer  
Mevrouw dr. J.M. Cramer  
Postbus 30945  
2500 GX Den Haag

**DATUM** 26 juni 2007  
**KENMERK** CGM/070626-03  
**ONDERWERP** Advies Karakterisering van het genoom van varkenspestvirus en Bovine viral diarrhoea virus

Geachte mevrouw Cramer,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunning IG-97-224/06 met de titel “*Karakterisering van het genoom van Hog cholera virus (varkenspestvirus) en Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)*” van de Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek, Animal Sciences Group, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een wijziging in de vergunning betreffende werkzaamheden met genetisch gemodificeerd *Hog cholera virus* oftewel *Classical swine fever virus*; CSFV. De aanvrager is voornemens het genoom van het CSFV te karakteriseren om hier vervolgens een markervaccin tegen te ontwikkelen. Daarnaast werkt de aanvrager met het minder pathogene *Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)*. De werkzaamheden betreffen laboratoriumwerkzaamheden evenals werkzaamheden in associatie met proefdieren.

Vorig jaar heeft de COGEM een algemeen advies uitgebracht waarin de criteria voor de inschaling van dierpathogene virussen in pathogeniteitsklassen zijn aangegeven inclusief de daaraan gekoppelde werk- en inrichtingsvoorschriften voor recombinant DNA werkzaamheden. Deze voorschriften verschillen van de in de regeling GGO vermelde werken inrichtingsvoorschriften omdat dierpathogenen wel een milieurisico vormen maar geen mensen kunnen infecteren.

CSFV kan bij varkens een zeer besmettelijke en ernstige ziekte veroorzaken en is daarom ingedeeld in pathogeniteitsklasse 4. De COGEM heeft eerder geoordeeld dat de ML-III ruimte binnen de High Containment Unit (HCU) van het CIDC voldoet aan de eisen die de COGEM stelt voor werkzaamheden met een klasse 4 dierpathogeen. De COGEM is van mening dat de werkzaamheden met gg-CSFV onder ML-III en DM-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften kunnen plaatsvinden in de HCU van het CIDC Lelystad, conform de voorgestelde maatregelen in het eerdere algemene advies. Echter, deze aanvraag betreft ook werkzaamheden met niet-gespecificeerde donorsequenties uit dieren waardoor een risicoanalyse voor dit aspect niet mogelijk is. De COGEM is van mening dat de donorsequenties cytokine- en huishoudgenen nader gespecificeerd dienen te worden door de aanvrager alvorens over dit aspect van de aanvraag advies kan worden gegeven

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'Z' followed by a horizontal line that ends in a small hook.

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

c.c. Dr. ir. B.P. Loos  
Dr. I. van der Leij

## **Inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerd *Hog cholera virus* (varkenspestvirus) en *Bovine viral diarrhea virus***

### **COGEM advies CGM/070626-03**

#### **1. Inleiding**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een wijziging in de vergunning voor werkzaamheden met het *Hog cholera virus* (*Classical Swine Fever virus*, CSFV) en met *Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) van het CIDC-Lelystad (IG-97-224/06). Het doel van de experimenten is het karakteriseren van het genoom van CSFV en het ontwikkelen van vaccins op basis van een CSFV backbone of van BVDV vectoren die CSFV genen tot expressie brengen.

In de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (Regeling GGO) worden organismen en virussen op basis van hun pathogeniteit onderverdeeld in vier klassen. Aan elke klasse is een bepaald niveau van inperking en werkvoorschriften gekoppeld. Grofweg betekent dit dat ggo-werkzaamheden met een klasse 1 organisme kunnen plaatsvinden in een ML-I laboratorium terwijl werkzaamheden met een klasse 4 pathogeen in een ML-IV ruimte moeten plaatsvinden. Deze gehele systematiek is ontwikkeld voor pathogenen van de mens. Zowel de indelingscriteria als de inrichtings- en werkvoorschriften zijn gericht op de bescherming van de mens.

Dierpathogene virussen worden in principe ingedeeld in klasse 2 van dit systeem. Bescherming van laboratoriummedewerkers is immers niet aan de orde, aangezien het dierpathogenen betreft. De aan klasse 2 gekoppelde inrichtings- en werkvoorschriften bieden over het algemeen voldoende waarborgen om verspreiding van het genetisch gemodificeerde pathogeen uit het laboratorium (inperkingsniveau ML-II) uit te kunnen sluiten.

Er is echter een aantal dierpathogene virussen dat extra maatregelen vereist om ontsnapping uit laboratoriumruimten tegen te gaan. Het betreft virussen zoals het *Mond-en-klauwzeervirus* (MKZV) en varkenspestvirus (CSFV), die zich snel en gemakkelijk verspreiden, nauwelijks onder controle te brengen zijn en grote schade kunnen aanrichten bij hun gastheer. In het verleden is daarom voor deze virussen een uitzonderingsklasse 2D ingesteld, waarbij aanvullende eisen met betrekking tot de inrichting van de laboratoria en de dierverblijven waarin de ggo-werkzaamheden plaatsvinden, werden gesteld.

Bij de implementatie van de EU richtlijn 2001/18 in de Nederlandse regelgeving bleek het hanteren van deze uitzonderingsklasse ongewenst. Het ministerie van VROM vroeg de COGEM vervolgens om nieuwe criteria voor de classificatie van dierpathogene virussen op te stellen (1). In het COGEM advies worden 4 klassen onderscheiden voor de

indeling van dierpathogene virussen. Behalve criteria voor de indeling van de virussen worden ook per klasse de noodzakelijke inrichtings- en werkvoorschriften gegeven om ontsnapping van de virussen te voorkomen. Deze inrichtings- en werkvoorschriften wijken af van de voorschriften zoals vermeld in de Regeling GGO omdat bescherming van de laboratoriummedewerkers bij dierpathogenen minder van belang is.

### **1.1 Hog cholera virus (varkenspestvirus)**

Het *Hog cholera virus*, ook wel *Classical swine fever virus* (CSFV) of *klassieke varkenspestvirus* genoemd behoort tot de familie *Flaviviridae*, genus *Pestivirus* (2,3). Er is één serotype van CSFV bekend. Alleen Europese tamme varkens en wilde zwijnen zijn vatbaar voor het varkenspestvirus, dat een zeer besmettelijke ziekte kan veroorzaken. Hoewel het virus in grote delen van Europa is uitgeroeid, komen incidenteel toch uitbraken voor. In Duitsland komt de ziekte regelmatig voor onder wilde zwijnen (4). CSFV is niet in staat om mensen te infecteren.

Het ziektebeeld kan variëren van peracut tot chronisch en subklinisch. De acute vorm van CSFV wordt gekarakteriseerd door hoge koorts, meerdere oppervlakkige en interne bloedingen, hoge morbiditeit en mortaliteit. De chronische vorm wordt gekenmerkt door een mildere vorm van anorexia en koorts dan bij de acute vorm te zien is. Bij volwassen dieren is soms herstel waar te nemen.

CSFV heeft een hoge mortaliteit bij zeer jonge dieren. Bloed, weefsel en lichaamsvocht van besmette dieren bevat CSFV. Bij drachtige dieren kan het virus de placenta passeren en zo een infectie veroorzaken bij de foetus (intra-uteriene infectie). Hierdoor ontstaan immuuntolerante virusdragers die gezond lijken, maar grote hoeveelheden virus uitscheiden, omdat zij zogenaamd persistent infectieus zijn.

Transmissie van CSFV kan zowel door direct als indirect contact plaatsvinden. Mensen, kleding, vervoersmiddelen, strooisel en slachtproducten kunnen het virus overbrengen. In gedroogde mest kan het virus bovendien lang infectieus blijven. Daarnaast kan het virus ook door de lucht verspreid worden, zij het alleen over korte afstanden (7). De afgelopen jaren zijn er DIVA-vaccins (Differentiating Infected from Vaccinated Animals) beschikbaar gekomen tegen CSFV, maar deze zijn nog niet algemeen geaccepteerd omdat de effectiviteit (het onderscheid tussen geïnfecteerde dieren en gevaccineerde dieren) nog niet voldoende bewezen is (4).

CSFV is een ernstige en erg besmettelijke ziekte, waardoor de kans op verspreiding van het virus in de dierpopulatie buiten een laboratorium groot is (2,3). Bovendien heeft het virus een hoge persistentie buiten de gastheer. Daarom heeft de COGEM in haar advies “classificatie van dierpathogenen” het CSFV ingedeeld in klasse 4 van de dierpathogene virussen (1).

### **1.2 Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)**

Het BVD-virus behoort samen met het *varkenspestvirus* (bij varkens) en het *Border disease virus* (BDV, bij schapen) tot de familie van de *Flaviviridae* en het genus *Pestivirus*. Hoewel BVDV ook varkens en schapen kan infecteren, is het bovenal een infectieziekte bij rundvee. BVDV is overdraagbaar via speeksel, neusuitvloeiing, traanvocht, melk, mest, urine en sperma. Naast direct contact tussen dieren onderling kan verspreiding ook via mensen en materialen plaatsvinden (8). BVDV kan geen infectie veroorzaken bij mensen.

Bij drachtige dieren die besmet raken kan een intra-uteriene infectie optreden. Bij foetussen jonger dan vier maanden is het immuunsysteem nog niet ontwikkeld en daarom zal deze geen antistoffen aanmaken tegen het virus. Deze dieren blijven na hun geboorte persistent infectieus en zijn BVDV-dragers. Ze hebben vaak afwijkingen aan ogen, vacht of huid en lopen (blijvend) achter in de groei. BVDV-dragers worden meestal niet ouder dan een jaar of twee maar scheiden gedurende hun leven wel grote hoeveelheden virus uit waardoor ze een constante bron van infectie vormen voor andere dieren (6, 7, 8).

Het ziektebeeld kan variëren van een relatief milde vorm van BVDV (niet-cytopathogeen type) tot een ernstiger cytopathogeen type, dat enkel bij immuuntolerante BVDV-dragers voorkomt. Het niet-cytopathogene type resulteert in koorts, diarree, depressie, afnemende melkproductie, luchtwegproblemen en futloosheid. Bovendien wordt het afweersysteem aangetast waardoor de dieren vatbaarder zijn voor andere infecties. De transitie van niet-cytopathogeen type naar cytopathogeen type treedt alleen op bij immuun-tolerante, persistent geïnfecteerde kalveren en leidt tot slijmvliezatie of mucosal disease (MD). Besmette dieren hebben hoge koorts, diarree, bloedingen op de slijmvliezen en sterven dientengevolge meestal binnen 48 uur (8). BVDV wordt bestreden door dieren te vaccineren en dragers van BVDV op te sporen en af te voeren. BVDV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.

### **1.3 Voorgenomen werkzaamheden**

De aanvrager is voornemens om het genoom van het klassieke varkenspestvirus (CSFV) te karakteriseren en vervolgens vaccins hiertegen te ontwikkelen op basis van een CSFV backbone of van BVDV vectoren die CSFV genen tot expressie brengen. Het betreft hier zowel laboratoriumhandelingen als werkzaamheden in associatie met proefdieren (runderen en konijnen).

De aanvrager is van plan om zowel individuele genen van onder andere CSFV te kloneren als een volledige infectieuze kloon van het virale genoom van CSFV te maken waarin virale- en cellulaire genen afkomstig uit varkens en runderen, waaronder cytokinegenen, ingebouwd worden. Deze kloon kan vermenigvuldigd en in stand gehouden worden door klonering in een plasmide in *Escherichia coli*. *In vitro*

geproduceerde infectieuze RNA transcripten zullen worden gebruikt om eukaryote cellen te infecteren met dit gg-CSFV waarbij virusdeeltjes gevormd worden. Tenslotte wil de aanvrager werkzaamheden uitvoeren met gg-CSFV in experimenten met proefdieren (runderen en konijnen).

CSFV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 4 met als gevolg dat werkzaamheden met gg-CSFV volgens de Regeling GGO moeten worden uitgevoerd op ML-IV niveau. De aanvrager wil deze werkzaamheden uitvoeren op ML-III en DM-III niveau met aanvullende voorschriften. De COGEM is gevraagd om te adviseren over de werkzaamheden met gg-CSFV onder respectievelijk ML-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften voor laboratoriumwerkzaamheden en DM-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften voor werkzaamheden met gg-CSFV in associatie met proefdieren in de High Containment Unit (HCU) van het Centraal Instituut voor Dierziekte Controle (CIDC).

## **2. Eerdere COGEM adviezen**

In juni 2006 heeft de COGEM geadviseerd over een vergelijkbare adviesvraag. Deze adviesvraag betrof werkzaamheden met het *Mond- en klauwzeer virus* (MKZV) in de HCU van het CIDC. MKZV is eveneens ingedeeld als een dierpathogeen klasse 4. De COGEM heeft geadviseerd dat het mogelijk is om laboratoriumwerkzaamheden met genetisch gemodificeerd MKZV op ML-III inperkingsniveau uit te voeren met aanvullende en gewijzigde voorschriften (9). Bovendien heeft de COGEM geoordeeld dat de ML-III ruimte binnen de HCU van het CIDC in het licht van de voorgenomen experimenten met ggo-MKZV, voldoet aan de eisen die de COGEM stelt voor een klasse 4 dierpathogeen.

De COGEM heeft in het algemene advies classificatie van dierpathogenen de noodzakelijke inrichtingsvoorschriften aan de hand van de Regeling GGO vermelde voorschriften weergegeven (1). Voor klasse 4 dierpathogene virussen is gesteld dat de maatregelen die gericht zijn op het tegengaan van ontsnapping van het virus gelijk moeten zijn aan die van een ML-IV ruimte. Het gaat hier om maatregelen zoals onderdruk, HEPA filters in de ontluchtungskanalen, wisseling van kleding en schoeisel en douches voor medewerkers.

## **3. Overweging en Advies**

Het ministerie van VROM heeft bij monde van het Bureau GGO de COGEM gevraagd of zij van mening is dat voor deze specifieke vergunningaanvraag de in haar algemene advies gegeven voorschriften voldoende zijn om de milieuveiligheid te waarborgen. Daarnaast heeft het ministerie de verschillende stappen en onderdelen van de

voorgenomen werkzaamheden ingeschaald, en wil zij weten of de COGEM hiermee kan instemmen.

Het ministerie heeft in haar voorstel tot inschaling de kloneringswerkzaamheden van CSFV genen in *Escherichia coli*, ingeschaald op ML-I en de werkzaamheden met een volledige genomische CSFV kloon ingeschaald op ML-III. De aanvrager heeft aangegeven de werkzaamheden met BVDV eveneens op ML-III te willen uitvoeren. BVDV is een virus van pathogeniteitsklasse 2, maar omdat ook met het zwaarder ingeschaalde CSFV gewerkt wordt, volgt de inschaling van BVDV die van werkzaamheden met CSFV.

De aanvrager wil individuele genen van CSFV, BVDV, BDV en hiervan afgeleide mutanten kloneren in *E. coli*. De individuele genen zijn niet in staat tot replicatie in een prokaryote cel als *E. coli*. De COGEM is derhalve van mening dat de voorgenomen kloneringswerkzaamheden met genen uit CSFV geen risico's met zich mee brengen en dat ML-I voor deze werkzaamheden voldoende inperking biedt.

Ten tweede wil de aanvrager werkzaamheden uitvoeren met een volledige genomische kloon waarbij *in vitro* transcriptie leidt tot full-length infectieus RNA van CSFV waarin virale- en cellulaire genen afkomstig uit varkens en runderen waaronder cytokinegenen ingebouwd zijn. Daarnaast werkt de aanvrager met genetisch gemodificeerd BVDV dat sequenties uit onder andere CSFV bevat. De aanvrager geeft bij deze werkzaamheden een breed scala van donorsequenties, te weten (delen en combinaties van) genen van CSFV, BVDV, *Border disease virus* (BDV), hiervan afgeleide mutanten, en niet-gespecificeerde genen afkomstig uit varken en rund waaronder cytokine genen. Deze wil hij kloneren en vervolgens in het BVDV genoom te plaatsen waardoor chimere virussen ontstaan.

Uit wetenschappelijke literatuur blijkt dat bij het gros van de gevallen waarin virussen genetisch gemodificeerd worden, dit leidt tot attenuatie van dit virus. Er zijn echter ook uitzonderingsgevallen bekend (10). De COGEM wil hierbij met name wijzen op het inbouwen van niet nader gespecificeerde immuunmodulerende genen (cytokines) in deze virussen, waarbij effecten op essentiële karakteristieken van het virus niet altijd voorspelbaar zijn gebleken. In het onderzoeksrapport "Recombinant and chimeric viruses" is een evaluatie van risico's gemaakt die geassocieerd worden met veranderingen in tropisme bij recombinante en chimere virussen. In dit rapport komen ook de mogelijke risico's van de insertie van cytokines in virus vectoren aan de orde (11).

Door het complexe karakter van cytokine netwerken kunnen de verschillende effecten, zowel positieve als negatieve, van cytokines op het immuunsysteem niet altijd van tevoren voorspeld worden. Het beoogde en verwachte effect van het gebruik van cytokines is het stimuleren van het afweersysteem om zo de immunrespons na

vaccinatie te verbeteren (11). Het gebruik van cytokines kan echter ook onverwachte nadelige effecten hebben. Er is tenminste één geval bekend waarin een virus een cytokine produceert dat aanleiding geeft tot een onverwachte immuunrespons waardoor de pathogeniteit van het virus wordt verhoogd (10).

Omdat de aanvrager niet specifiek aangeeft met welke cellulaire genen hij gaat werken, is het voor de COGEM onmogelijk om voor dit aspect een gedegen risico analyse uit te voeren. Door het ontbreken van deze gegevens kan niet worden uitgesloten dat de beoogde genetische modificaties de pathogeniteit verhogen en/of kunnen leiden tot doorbreken van bestaande immuniteit (10) of in het ergste geval zelfs het gastheertropisme veranderen.

De aanvrager is voornemens om animale cellen te infecteren met de recombinante virussen. Bureau GGO heeft voorgesteld deze werkzaamheden in te schalen op ML-III met aanvullende voorschriften. Deze inschaling is gelijk aan de inschaling die wordt gehanteerd voor laboratoriumwerkzaamheden met MKZV. MKZV is uiterst infectieus en kan zich gemakkelijk op aëroge wijze verspreiden. CSFV is evenals MKZV een klasse 4 pathogeen. Het is een zeer besmettelijk dierpathogeen virus, maar kan zich alleen over korte afstanden via de lucht verspreiden.

Volgens de COGEM bieden de voorgestelde inperkingsmaatregelen en -voorschriften in de onderhavige situatie, gezien de aanwezigheid van onder andere onderdruk en HEPA filtering in de aan- en afvoerkanalen in de HCU, voldoende inperking om werkzaamheden met gg-CSFV uit te voeren. Echter, zoals eerder gesteld, merkt de COGEM op dat de omschrijving van een aantal van de donorsequenties dusdanig breed is dat het onmogelijk is om een risicoanalyse uit te voeren voor deze donorsequenties, te weten cytokine- en huishoudgenen. De COGEM is van mening dat nadere specificatie is vereist over de cytokine- en huishoudgenen waarmee de aanvrager precies gaat werken, voordat een uitspraak gedaan kan worden over de risico's hiervan.

Tenslotte heeft het ministerie een voorstel tot inschaling ingediend voor handelingen met proefdieren in associatie met gg-CSFV. Ten aanzien van de werkzaamheden met gg-CSFV in associatie met dieren richten de inperkingsmaatregelen zich primair op het voorkomen van verspreiding naar het milieu van gg-CSFV via besmette dieren, medewerkers, afval en apparatuur.

Verspreiding van CSFV vindt voornamelijk plaats door direct contact tussen dieren onderling en door indirect contact via personen, materialen en transportmiddelen. Aëroge verspreiding is voor CSFV een minder belangrijke transmissieroute en alleen mogelijk over korte afstanden, in tegenstelling tot MKZV. Verspreiding van BVDV kan over korte afstanden aërogeen plaatsvinden, voornamelijk door immuuntolerante persistent infectieuze BVDV-dragers die veel virus uitscheiden via diverse excreta. Het



voorkomen van neus-neus contact blijkt in veel gevallen al voldoende te zijn om transmissie te voorkomen.

De voorgestelde inperkingsmaatregelen, namelijk DM-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften, bieden naar de mening van de COGEM voldoende inperking om het risico van verspreiding naar mens en milieu af te dekken voor de werkzaamheden met gg-CSFV. De aanvullende maatregelen betreffen onder andere het dragen van maskers (P2 of hogere specificatie) en handschoenen. De voorgestelde maatregelen zijn gebaseerd op de maatregelen genoemd in het COGEM advies “Classificatie van dierpathogenen” voor het hanteren van proefdieren in associatie met klasse 4 dierpathogenen.

De voorschriften die de COGEM in haar eerdere algemene advies heeft gesteld zijn gericht op bescherming van het milieu door verspreiding uit het gebouw waarbinnen de werkruimte zich bevindt, te voorkomen (onderdruk, HEPA-filters in af- en aanvoerkanalen, desinfectie van werkoppervlakken etc.). Hierbij zijn maatregelen gericht op de bescherming van de mens zoals die gehanteerd worden bij werkzaamheden met humane pathogenen niet noodzakelijk. Wel kan de mens mogelijk als verspreider optreden van het virus. Het douchen van de laboratoriummedewerkers, de wisseling van kleding en schoenen bij het verlaten van de onderdrukruimte etc. en het feit dat de betrokken medewerkers minimaal drie dagen na de werkzaamheden niet in aanraking komen met dieren die gevoelig zijn voor klassieke varkenspest, biedt voldoende waarborgen om verspreiding te voorkomen.

## **Conclusie**

De COGEM is gevraagd om te adviseren over de werkzaamheden met gg-CSFV onder respectievelijk ML-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften voor laboratoriumwerkzaamheden en DM-III met aanvullende en gewijzigde voorschriften voor werkzaamheden met gg-CSFV in associatie met proefdieren in de High Containment Unit (HCU) van het Centraal Instituut voor Dierziekte Controle (CIDC). De COGEM heeft eerder in het algemene advies classificatie dierpathogenen aangegeven dat zij van mening is dat de ML-III ruimte binnen de HCU van het CIDC voldoet aan de eisen die de COGEM stelt voor werkzaamheden met een klasse 4 dierpathogeen.

De COGEM is van mening dat ook in deze specifieke situatie de werkzaamheden met infectieus gg-CSFV en BVDV kunnen worden uitgevoerd op ML-III niveau met aanvullende en gewijzigde werk- en inrichtingsvoorschriften zoals vermeld in het inschalingsvoorstel van Bureau GGO. Werkzaamheden met infectieus genetisch gemodificeerd CSFV en BVDV in associatie met proefdieren kan op DM-III niveau plaatsvinden met inachtneming van aanvullende en gewijzigde werk- en inrichtingsvoorschriften.

In deze aanvraag geeft de aanvrager echter een zeer breed spectrum aan donorsequenties aan waar hij mee wil gaan werken, waaronder cytokine- en huishoudgenen. Naar de mening van de COGEM kan op basis van deze algemene omschrijving geen risico-analyse gemaakt worden met betrekking tot het gebruik van cytokine- en huishoudgenen als donorsequentie in de werkzaamheden met gg-CSFV. De COGEM is van mening dat specifieke informatie is vereist over de cytokine- en huishoudgenen die de aanvrager wil gaan gebruiken als donorsequentie in de hier genoemde gg-virussen alvorens zij hierover kan adviseren.

## Referenties

- 1) COGEM advies. (2006). Classificatie van dierpathogene virussen (CGM/060420-04)
- 2) Knipe, M.D. and Howley, P.M. (2001). Fields virology. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
- 3) Van Regenmortel, M.H.V. (2000). Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego
- 4) Ministerie van Landbouw, Natuur en Voedselkwaliteit. Dossier Diergezondheid. Internet: [www.minlnv.nl](http://www.minlnv.nl) (3 april 2006)
- 5) Brock, K.V. (2003). The persistence of bovine viral diarrhoea virus
- 6) Katholm, J., Houe, H. (2006). Possible spread of bovine viral diarrhoea virus bij contaminated medicine, The veterinary record, 158, 798-799
- 7) Paton, D.J. and Greiser-Wilde, I (2003) Classical swine fever – an update. Res Vet Sci 75, blz. 169-178
- 8) The Merck Veterinary Manual, Bovine Viral Diarrhoea and Mucosal Disease Complex. Internet [www.merckvetmanual.com](http://www.merckvetmanual.com) (21 juni 2007)
- 9) COGEM advies (2006). Inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerd MKZV (CGM/060711-01)
- 10) Peeters, B.P.H. (2005). Recombinant and chimeric viruses, evaluation of risks associated with changes in tropism (CGM 2005-04)
- 11) Jackson R.J. *et al.* (2001) Expression of mouse interleukin-4 by a recombinant ectromelia virus suppresses cytolytic lymphocyte responses and overcomes genetic resistance to mousepox. Journal Virology, 2001 Feb;75 (3):1205-10
- 12) COGEM onderzoeksrapport.(2005). Recombinant and chimeric viruses; evaluation of risks associated with changes in tropism (CGM/2005-04)