

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
dhr. J.J. Atsma
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 9 november 2010
KENMERK CGM/101109-03
ONDERWERP Advies: Classificatie van drie lyssavirussen

Geachte heer Atsma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende een vergunningaanvraag met de titel 'Studies on Lyssavirus pathogenesis and vaccine development' van het Erasmus Universitair Medisch Centrum te Rotterdam, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting

De COGEM is gevraagd te adviseren over de classificatie van het *Rabies virus* (RABV), het *Mokola virus* (MOKV) en het *Duvenhage virus* (DUVV). Alle drie virussen behoren tot de soort *Lyssavirus*. Tevens is zij verzocht advies uit te brengen over het inperkingsniveau waarop laboratoriumwerkzaamheden met replicatiecompetente, genetisch gemodificeerde (gg-) RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren ingeschaald dienen te worden.

De drie lyssavirussen veroorzaken in zoogdieren een ernstige ziekte die leidt tot de dood. Als de ziekte zich eenmaal openbaart, is er geen adequate behandeling mogelijk. De enige vorm van behandeling wordt gevormd door toediening van RABV-specifiek vaccin en antilichamen direct na een mogelijke besmetting. Overdracht van een lyssavirus op mensen vindt over het algemeen plaats na een beet of krab van besmette dieren als hond, kat, vos of vleermuis. Het RABV was lange tijd in Nederland aanwezig, maar is na een vaccinatiecampagne van dieren sinds 1988 niet meer aangetroffen in mens of dier. Het MOKV en DUVV wordt alleen aangetroffen op het Afrikaanse continent.

De COGEM adviseert het RABV, MOKV en DUVV in te delen in pathogeniteitsklasse 3. Gebaseerd op deze indeling kan zij ermee instemmen dat de voorgenomen kloneringswerkzaamheden van volledige wildtype of chimere lyssavirus genomen op ML-II niveau uitgevoerd worden. De experimenten met gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren in animale cellen en weefsels adviseert de COGEM op ML-III inperkingsniveau in te schalen. De laboratoriumwerkzaamheden met proefdieren adviseert zij op DM-III inperkingsniveau uit te voeren. Aangezien de COGEM transmissie van de gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren onder laboratorium-omstandigheden niet kan uitsluiten, is zij van mening dat enkele aanvullende voorschriften nodig zijn om het risico van een besmetting van medewerkers te minimaliseren. Op genoemde inperkingsniveaus en onder navolging van de aanvullende voorschriften is de COGEM van mening dat de risico's van de voorgenomen werkzaamheden met gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

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 stylized 'Z' followed by a horizontal line and a small dash.

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

c.c. Drs. H.P. de Wijs
Dr. I. van der Leij

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 drie lyssavirussen

COGEM advies CGM/101109-03

1. Inleiding

De COGEM is verzocht te adviseren over de classificatie van drie lyssavirussen. Het betreft het *Rabies virus* (RABV), het *Mokola virus* (MOKV) en het *Duvenhage virus* (DUVV). De aanvrager, het Erasmus Universitair Medisch Centrum, is van plan de pathogenese van deze lyssavirussen *in vitro* en *in vivo* te bestuderen. Bovendien wil de aanvrager de mogelijkheden onderzoeken om een vaccin tegen deze virussen te ontwikkelen. Hiertoe vraagt de aanvrager onder andere gebruik te mogen maken van genetisch gemodificeerd (gg-) RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren. Naast de classificatie van betreffende uitgangsvirussen is de COGEM ook verzocht te adviseren over de inschaling van de beoogde werkzaamheden.

1.1 Lyssavirussen

Genotypen

Het *Rabies virus*, *Mokola virus* en *Duvenhage virus* behoren tot het genus *Lyssavirus* binnen de familie van de *Rhabdoviridae*.¹ Het genus *Lyssavirus* omvat op dit moment zeven verschillende virussoorten. Dit zijn RABV, (genotype 1), Lagos bat virus (genotype 2) MOKV (genotype 3), DUVV (genotype 4), European bat lyssavirus 1 (EBLV-1) (genotype 5), European bat lyssavirus 2 (EBLV-2) (genotype 6) en Australian bat lyssavirus (genotype 7). Op basis van de sequentie van het virale glycoproteïne, de pathogeniteit en immunogeniteit zijn deze virussen in te delen in twee groepen. De *Lyssavirus* genotypen 1, 4, 5, 6 en 7 worden gerekend tot de zogenaamde phylogroep I en genotype 2 en 3 tot phylogroep II.²

Pathogeniteit

Alle zoogdieren inclusief de mens kunnen geïnfecteerd worden door de lyssavirussen. Alleen het Lagos bat virus is nooit geassocieerd met een infectie van de mens. De belangrijkste dierreservoirs zijn carnivoren als vos, wolf, hond en kat en sommige soorten vleermuizen. Het MOKV is tot op heden echter nog nooit aangetroffen in vleermuizen.³ Transmissie van het virus vindt van nature plaats door contact met besmet speeksel na een beet of krab van een met een lyssavirus besmet dier. Er is in de wetenschappelijk literatuur ook enkele malen gerapporteerd dat het virus is overgedragen als gevolg van een transplantatie of in geval van laboratoriumwerkzaamheden via aerosolen.^{4,5} Over het algemeen openbaren de eerste symptomen van ziekte zich na een incubatieperiode van gemiddeld een à twee maanden, maar afhankelijk van de plaats van de beet kan dit variëren.

Lyssavirussen zijn neurotroop. Hoewel besmetting meestal optreedt in niet-neuronaal weefsel, kan het virus zich hier wel vermenigvuldigen. Na deze eerste ronde van replicatie verspreidt het zich naar de neuronen en naar de hersenen, hetgeen leidt tot hersenontsteking. In het begin van de ziekte treden over het algemeen weinig specifieke symptomen op als koorts, verminderde eetlust, misselijkheid, braken en hoofdpijn. Later treden zenuwverschijnselen op als krampen,

verlammingen, nekstijfheid, hyperactiviteit en stuipen. In het finale stadium treedt coma op leidend tot de dood.

Virusdeeltje

Lyssavirussen hebben een lineair, unimoleculair, negatief-strengig RNA genoom van ongeveer 12 kb. Het lyssavirusgenoom codeert voor vijf structurele eiwitten: het zogenaamde ‘nucleoproteïne’ (N-eiwit), het ‘phosphoproteïne’ (P-eiwit), het ‘matrixproteïne’ (M-eiwit), het ‘glycoproteïne’ (G-eiwit) en het RNA polymerase (L-eiwit).⁶ Het genoom wordt ingepakt in een kogelvormig virusdeeltje dat ongeveer 180 nm lang is en 75 nm breed.^{4,6} Dit deeltje bestaat uit een spiraalvormige, zogenaamde ‘nucleoproteïne’ kern die wordt omgeven door een lipidemembraan. De kern wordt gevormd door het N-eiwit, het P-eiwit en het L-eiwit. In de kern ligt het genomische RNA verankerd. Het RNA polymerase (L-eiwit) in de ‘nucleoproteïne’ kern is betrokken bij de transcriptie en de replicatie van het virale genoom.

Het G-eiwit vormt ongeveer 400 trimere ‘spikes’ die verankerd zijn in het membraan en geëxposeerd aan de oppervlakte van het virus. Het G-eiwit zorgt voor de binding van het virus aan en infectie van de gastheercellen en speelt een belangrijke rol in de pathogeniteit van het virus. Na infectie met een lyssavirus treedt er een afweerreactie op die met name gericht is tegen het G-eiwit. Het M-eiwit bindt aan de ‘nucleoproteïne’ kern en het cytoplasmatische domein van het G-eiwit. Hierdoor speelt het M-eiwit een centrale rol in de assemblage van het uiteindelijke virusdeeltje en faciliteert het M-eiwit het zogenaamde ‘buddingproces’ waardoor het virus uit de cel vrijkomt.^{1,6}

1.2 Kenmerken van het Rabiës virus

Een infectie met het RABV leidt in mensen en zoogdieren tot een ernstige ziekte, die in de volksmond ook wel hondsdolheid of rabiës wordt genoemd. Rabiës kwam al voor in de klassieke oudheid en werd voor het eerst beschreven in de Codex van Eshnunna ca. 2200 v. C.⁷ Het klassieke Rabiës virus komt wereldwijd voor met uitzondering van Australië, Nieuw-Zeeland, een toenemend aantal Europese landen, Antarctica en Japan.⁸ Volgens de Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) overlijden er ieder jaar ongeveer 55.000 mensen dood aan de gevolgen van een infectie met het RABV.⁹ Het betreft voornamelijk mensen afkomstig uit Azië en Afrika. Een beet van een besmette hond is voor de mens de belangrijkste oorzaak van een besmetting met RABV. Er wordt algemeen aangenomen dat het RABV van nature niet van mens op mens overgedragen wordt.¹⁰

Aanvankelijk was het RABV ook aanwezig in West- en Centraal Europa. Door orale vaccinatie programma’s waarin lokaas met vaccin uitgelegd werden voor onder andere vossen is rabiës in deze delen van Europa sterk afgenomen. Sinds de vaccinatiecampagne in 1988 tijdens de laatste uitbraak van rabiës onder dieren komt het klassieke RABV in Nederland niet meer voor.¹¹

Tot de ontwikkeling van een vaccin door Louis Pasteur in 1885 was een besmetting met het RABV voor mensen altijd fataal. Door toediening van een vaccin en/of immunoglobulinen voor en/of direct na een mogelijke besmetting met het virus, kan het virus effectief geneutraliseerd worden en wordt de ziekte voorkomen. Echter op het moment dat de eerste klinische symptomen

83 zich openbaren is er geen adequate behandeling mogelijk. In deze fase leidt een infectie met
84 RABV vrijwel altijd tot het overlijden van de getroffen. Er zijn slechts enkele gevallen bekend
85 waarin mensen met rabiës-symptomen de ziekte hebben overleefd.¹² De WHO meldt dat er
86 wereldwijd jaarlijks meer dan 15 miljoen mensen profylaxe krijgen toegediend.⁹

88 **1.3 Kenmerken van het Mokola virus**

89 Het MOKV is in 1968 voor het eerst geïsoleerd uit spitsmuizen (*Crocidura* sp.) uit het Mokola
90 woud in Nigeria. Kort na de eerste beschrijving is het MOKV aangetroffen in drie kinderen uit
91 Nigeria. Twee van de drie kinderen zijn als gevolg van deze infectie overleden.^{13,14} Sindsdien zijn
92 er geen gevallen meer bekend van een humane infectie door dit virus. Onlangs is wel een geval
93 gepubliceerd van drie mensen die door één met het MOKV geïnfecteerde kat zijn gebeten of
94 gekrabbd.¹⁵ De personen werden behandeld met RABV specifieke profylaxe. Zestien maanden na
95 dato is geen van de betrokkenen ziek geworden als gevolg van een mogelijke besmetting met dit
96 virus. Het uitblijven van ziekte wordt in de publicatie toegeschreven aan een onverwacht succes
97 van de profylaxe of een verminderde pathogeniteit van deze lyssavirus variant.

98 Het MOKV kan verschillende zoogdieren infecteren. Sinds de ontdekking van het virus is het
99 MOKV vierentwintig maal in zoogdieren aangetroffen.¹⁶ In de meeste gevallen (zestien keer)
100 betrof het een infectie van een kat, twee keer van een hond en zes keer van een knaagdier. In
101 tegenstelling tot de andere lyssavirussen is het MOKV nog nooit aangetroffen in vleermuizen. Het
102 is niet bekend welk dier als reservoir van dit virus fungeert. Tot op heden is het MOKV alleen
103 aangetroffen op het Afrikaanse continent

104 Hoewel het MOKV net als het klassieke RABV leidt tot een hersenontsteking, ontwikkelt de
105 ziekte zich zonder de voor hondsdoelheid kenmerkende symptomen. De beschikbare vaccins, die
106 gebaseerd zijn op RABV geven geen kruisbescherming tegen het MOKV.¹⁷ De voor RABV
107 gebruikte profylaxe, voor en/of na een mogelijke besmetting met dit virus lijkt derhalve geen
108 bescherming te kunnen bieden tegen een MOKV infectie.¹⁸ Er is geen adequate behandeling tegen
109 een infectie met MOKV voor handen.

111 **1.4 Kenmerken van het Duvenhage virus**

112 Het DUVV is in 1970 voor het eerst aangetroffen in de hersenen van een man die was overleden
113 aan een ziekte met rabiës-achtige symptomen. De betreffende man was in Zuid-Afrika gebeten
114 door een vleermuis.^{19,20} Na de ontdekking in 1970 zijn er nog slechts twee incidenten beschreven
115 van een humane infectie met dit virus. De incidentie van een humane infectie met het DUVV is
116 derhalve laag. Het eerste incident vond plaats in 2006 en betrof een man uit Zuid-Afrika.²¹ Na een
117 krab door een vleermuis ontwikkelde deze man een rabiës-achtige ziekte. Veertien dagen na
118 openbaring van de ziekte overleed de man. Het tweede incident dateert uit 2007.^{22,25} In dit geval
119 betrof het een 34-jarige Nederlandse vrouw, die in Kenia was gekrabbd door een vleermuis. Na
120 terugkeer in Nederland, drieëntwintig dagen na het incident met de vleermuis kreeg ze rabiës-
121 achtige symptomen. Twintig dagen na opname in het ziekenhuis overleed de vrouw aan de gevolgen
122 van een infectie met DUVV. Naast de beschreven infecties van mensen is het DUVV tweemaal

aangetroffen in insectenetende vleermuizen. In 1981 is het virus geïsoleerd uit een vleermuis uit Zuid-Afrika, in 1986 is DUVV aangetroffen in een vleermuis uit Zimbabwe.²¹

Er wordt verondersteld dat de zogenaamde ‘microbats’ behorend tot de suborde van de *Microchiroptera* het natuurlijke reservoir vormen van het DUVV. Alle in Nederland voorkomende vleermuizen behoren tot de *Microchiroptera*. In de Nederlandse vleermuizen wordt echter alleen het EBLV-I en -II aangetroffen.²³ Het DUVV is tot op heden geografisch beperkt tot Afrika. Serologisch en phylogenetisch lijkt DUVV evenwel sterk op de EBLV’s. Het is hierdoor goed mogelijk dat deze twee continentale groepen een gezamenlijke voorouder hebben.²⁴

Het vaccin dat gebruikt wordt voor het RABV biedt ook bescherming tegen een infectie met het DUVV. Bovendien wordt het DUVV geneutraliseerd door humane anti-rabies immunoglobulinen. Net als bij RABV is er echter geen adequate behandeling tegen een infectie met DUVV, als de ziekte zich eenmaal geopenbaard heeft. Het is derhalve van belang dat direct na vermeende blootstelling aan het virus gestart wordt met de profylaxe.

2. Eerder COGEM advies

In een COGEM advies uit 2002 is het RABV ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.²⁶ In de betreffende vergunningaanvraag werd evenwel gebruik gemaakt van een stabiele en goed gedocumenteerde RABV vaccinstam. Deze vaccinstam beschouwde de COGEM als een klasse 2 virus. Derhalve heeft zij toentertijd geadviseerd de cloneringswerkzaamheden met deze RABV vaccinstam op ML-I niveau in te schalen. De *in vitro* en *in vivo* werkzaamheden met de gg-RABV vaccinstam adviseerde de COGEM op respectievelijk ML-II en DM-II niveau uit te voeren.

Het MOKV en het DUVV zijn door de COGEM nog niet eerder geclassificeerd.

3. Overweging en advies

In de Regeling ggo worden 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.²⁷ Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde micro-organismen van die klasse.

3.1 Classificatie van het Rabiës virus

Het RABV veroorzaakt bij mensen en zoogdieren een ernstige ziekte, waaraan wereldwijd nog vele geïnfecteerden overlijden. Tot op heden is geen adequate behandeling beschikbaar als de typische rabiës symptomen zich eenmaal openbaren. Tegen het RABV zijn wel een vaccin en humane anti-rabiës immunoglobulinen beschikbaar. Door behandeling van mensen met deze profylaxe, zowel voor als direct na een vermoedelijke besmetting kan het virus geneutraliseerd worden.

Hoewel RABV in het verleden in Nederland voorkwam is het virus effectief bestreden door middel van vaccinatieprogramma’s.

Door de ernst van de ziekte, de nagenoeg wereldwijde verspreiding en de beschikbare profylaxe, adviseert de COGEM het RABV in te delen in pathogeniteitsklasse 3.

3.2 Classificatie van het Mokola virus

Het MOKV kan bij mensen een dodelijke infectie teweeg brengen. De incidentie is evenwel laag. Een recent gepubliceerd incident met een met MOKV geïnfecteerd kat suggereert dat hetzij de kans op besmetting hetzij de kans op ziekte tengevolge van een besmetting met MOKV beperkt is. Voor zover bekend is er geen behandeling voorhanden. In tegenstelling tot het RABV is er geen specifiek Mokola virus vaccin beschikbaar. Ook biedt het RABV vaccin vermoedelijk geen kruisbescherming tegen een infectie met MOKV. Tot op heden is het MOKV alleen aangetroffen op het Afrikaanse continent en lijkt de verspreiding beperkt.

Ondanks de lage incidentie en de ogenschijnlijke beperkte verspreiding onder de Afrikaanse bevolking, is de COGEM door de aard van de ziekte en de afwezigheid van een behandeling of profylaxe van mening dat het MOKV in pathogeniteitsklasse 3 ingedeeld dient te worden.

3.3 Classificatie van het Duvenhage virus

Het DUVV wordt alleen aangetroffen op het Afrikaanse continent. Alhoewel het aantal gevallen van humane infecties beperkt is, had een infectie met het DUVV in de beschreven drie gevallen een dodelijk afloop. Indien de rabiës-achtige symptomen zich openbaren is er geen adequate behandeling voor handen. Ook is er geen DUVV-specifiek vaccin beschikbaar. De RABV vaccins bieden evenwel een bepaalde mate van kruisbescherming tegen dit virus, waardoor deze middelen als profylaxe tegen het DUVV kan worden toegepast. Het DUVV wordt hoofdzakelijk verspreid door zogenaamde ‘microbats’. Dit type vleermuizen komt ook voor in Nederland. Het DUVV is nog nooit aangetroffen in de Nederlandse vleermuis.

Op basis van de ernst van de ziekte, de mogelijke kruisbescherming die de rabiës-specifieke profylaxe biedt en de beperkte incidentie in en verspreiding onder mensen, adviseert de COGEM het DUVV in pathogeniteitsklasse 3 in te delen.

3.4 Inschaling van werkzaamheden

De aanvrager is voornemens replicatie competente gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren te produceren en deze in *in vitro* en *in vivo* experimenten te gebruiken. Deze vectoren bevatten het volledige genoom van het betreffende lyssavirus al dan niet in combinatie met het gen dat codeert voor het zogenaamde ‘Green Fluorescent Protein’ (GFP). De COGEM beschouwt de resulterende vectoren als vol virulent.

Daarnaast vraagt de aanvrager ook toestemming om chimere gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV te mogen maken. Hiertoe zullen de individuele genen coderend voor het N-, P-, M-, G- of L-eiwit tussen bovengenoemde lyssavirussen uitgewisseld worden. De aanvrager geeft aan dat de chimeren niet meer dan één gen van een ander genotype zullen bevatten.

Uit de wetenschappelijke literatuur blijkt dat het G-eiwit een grote rol speelt in de uiteindelijke pathogeniteit van een lyssavirus.²⁸ Ook het N-, P- en M-eiwit zijn hierop van invloed, al lijken ze minder van belang dan het G-eiwit.²⁹ Afhankelijk van de pathogeniteit van het lyssavirus waaruit betreffende genen afkomstig zijn, kan een uitwisseling van genen leiden tot een chimeer lyssavirus die meer of minder pathogeen is dan het uitgangsvirus.

De COGEM is van mening dat chimere lyssavirussen over het algemeen minder virulent zullen zijn dan de uitgangsvirussen. Dit wordt veroorzaakt doordat de afstemming van de natieve eiwitten van een virus veelal optimaal is, waardoor vervanging in de meeste gevallen leidt tot attenuatie. Aangezien de genoemde lyssavirussen vergelijkbare biologische karakteristieken als opbouw, replicatie en transmissie route bezitten, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat de voorgenomen uitwisselingen in een verandering van deze biologische karakteristieken zal resulteren. Gezien eerder genoemd effect van het G-, N-, P-, en M-eiwit kan de COGEM evenwel niet geheel uitsluiten dat de chimere virussen pathogener zullen zijn dan het uitgangsvirus. Het betreft daarbij een mogelijke verhoging van de pathogeniteit van MOKV en DUVV door de introductie van RABV genen. Gezien de vergelijkbare biologische karakteristieken is de COGEM evenwel van mening dat een dergelijke theoretische verhoging van de pathogeniteit niet dusdanig groot zal zijn, dat betreffende chimere lyssavirussen in pathogeniteitsklasse 4 ingedeeld dienen te worden. De COGEM adviseert derhalve de werkzaamheden met de voorgenomen chimere lyssavirussen op dezelfde wijze in te schalen als de eerder genoemde vol-virulente gg-lyssavirus vectoren.

Gezien de pathogeniteit van de lyssavirussen zal de aanvrager alle medewerkers vaccineren tegen het virus. Alleen die medewerkers die een adequaat niveau van neutraliserende antilichamen hebben, worden toegestaan met de infectieuze virussen te werken. Gezien de mogelijk fatale afloop van een infectie met lyssavirus, acht de COGEM het verstandig dat de medewerkers van tevoren worden gevaccineerd. Zij wijst er echter op dat de beschikbare vaccins en antilichamen gericht zijn tegen een infectie met het klassieke RABV. Door de grote overeenkomst tussen DUVV en RABV bieden deze middelen kruisbescherming tegen een infectie met DUVV. In het geval van het MOKV is evenwel geen kruisbescherming aangetoond. De COGEM is derhalve van mening dat het vaccin mogelijk geen volledige bescherming biedt tegen alle voorgenomen gg-lyssavirus varianten. Ondanks vaccinatie kan zij hierdoor niet uitsluiten dat een onverhoopte infectie van een medewerker tot ziekte zal leiden.

Gebaseerd op de indeling van RABV, MOKV en DUVV in pathogeniteitsklasse 3 en conform de Regeling GGO kan de COGEM instemmen met de inschaling van de voorgenomen kloneringswerkzaamheden in *E. coli* van full-length cDNA's van gg-lyssavirus vectoren op inperkingsniveau ML-II.

Op basis van classificatie van de drie lyssavirussen en bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat de voorgenomen *in vitro* werkzaamheden met animale cellijnen, cellen en weefsels in combinatie met gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV op ML-III inperkingsniveau uitgevoerd dient te worden. Gezien de transmissie route van lyssavirussen en de hoge concentraties waarmee onder laboratoriumomstandigheden gewerkt kan worden, kan de COGEM evenwel niet uitsluiten dat een medewerker geïnfecteerd raakt via wondjes van de huid of via contact met aerosolen.

Derhalve adviseert de COGEM voor de *in vitro* werkzaamheden de volgende aanvullende voorschriften te hanteren:

- Open handelingen dienen uitgevoerd te worden in een veiligheidskabinet van klasse II;
- Het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is verplicht;
- Het gebruik van 'sharps' moet tot een minimum worden beperkt en is alleen toegestaan in combinatie met kevlarhandschoenen;
- Alle medewerkers dienen gevaccineerd te zijn tegen lyssavirus.

De voorgenomen werkzaamheden met proefdieren in associatie met het gg-RABV, gg-MOKV of gg-DUVV adviseert de COGEM op basis van dezelfde overwegingen uit te voeren op DM-III inperkingsniveau. Om de mogelijke risico's voor met name de medewerker te minimaliseren acht zij het van belang dat daarbij de volgende aanvullende voorschriften worden gehanteerd:

- Betreffende dieren worden gehuisvest in een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd;
- Het gebruik van 'sharps' moet tot een minimum worden beperkt en is alleen toegestaan in combinatie met kevlarhandschoenen;
- Alle medewerkers dienen gevaccineerd te zijn tegen lyssavirus.

De COGEM is van mening dat op bovengenoemde inperkingsniveaus en door het hanteren van de gegeven aanvullende voorschriften de risico's van voorgenomen handelingen met gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. Tordo N *et al.* (2005). *Family Rhabdoviridae*. In: Virus Taxonomy, Eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. Edited by Fauquet CM. *et al.* Elsevier Academic Press, San Diego, USA. 623-644
2. Badrane H *et al.* (2001) Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.* 75:3268-3276
3. Sabeta CT *et al.* (2010). Mokola virus involved in a human contact (South Africa). *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 58: 85-90
4. Johnson N *et al.* (2006). Airborne transmission of lyssaviruses. *J. Med. Microbiol.* 55:785-790
5. Dietzschold B & Koprowski H (2004). Rabies transmission from organ transplants in the USA. *Lancet* 364: 648-649
6. Mattos de CM *et al.* (2001). Rhabdoviruses. In: *Fields Virology*. Edited by: Knipe MD and Howley PM. Philadelphia: 1245-1277
7. Adamson PB (1977). The spread of rabies into Europe and the probable origin of this disease in antiquity. *J.R. Asiat. Soc. GB Irel.* 2:140-144
8. RIVM (2 november 2010). Rabiës-hondsdoelheid. www.rivm.nl/cib/infectieziekten/
9. WHO (3 november 2010). Human and Animal rabies. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs099/en/index.html
10. Helmick CG *et al.* (1987). Is there a risk to contacts of patients with rabies? *Rev. Infect. Dis*

- 9:511-518
11. RIVM (3 november 2010). Rabiës. www.rivm.nl/ziekdoordier/zoon_op_rij/Rabies.jsp
12. Wilde H *et al.* (2008). Viewpoint: management of human rabies. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 102:979-982
13. Kemp GE *et al.* (1972). Mokola Virus; Further studies on IbAn 27377, a new Rabies-related etiologic agent of zoonosis in Nigeria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 356-359
14. Familusi JB *et al.* (1972). A fatal human infection with Mokola virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21: 959-963
15. Sabeta CT *et al.* (2010). Mokola virus involved in a human contact (South Africa). *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 58: 85-90
16. Sabeta CT *et al.* (2007). Mokola virus in Domestic mammals, South Africa. *Emerg Infect Dis.* 13: 1371-1373
17. Badrane H *et al.* (2001). Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity. *J. Virol.* 75:3268-3276
18. Fooks AR (2004). The challenge of new and emerging lyssaviruses. *Expert. Rev. Vaccines* 3: 333-336
19. Meredith CD *et al.* (1971). An unusual case of human rabies thought to be of Chiropteran origin. *South African Medical Journal* 45: 767-769
20. Tignor GH *et al.* (1977). Duvenhage virus: morphological, biochemical, histopathological and antigenic relationships to the Rabies serogroup. *J. gen. Virol.* 37: 595-611
21. Paweska JT *et al.* (2006). Fatal human infection with rabies-related Duvenhage virus, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 12: 1965-1967
22. Thiel van PPAM *et al.* (2009). Fatal human rabies due to Duvenhage virus from a bat in Kenya: Failure of treatment with coma-induction, ketamine, and antiviral drugs. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 3: e428
23. Het netwerk over vleermuizen in Nederland (28 oktober 2010). <http://www.vleermuis.net>
24. Bourhy H *et al.* (1992). Antigenic and molecular characterization of bat rabies virus in Europe. *J. Clin. Microbiol.* 30: 2419-2426
25. Thiel van PPAM *et al.* (2008). Fatal case of human rabies (Duvenhage virus) from a bat in Kenya: The Netherlands, December 2007. *Eurosurveillance* 13:1-2
26. COGEM (2002). Genetische modificatie van enkel-strengs RNA virussen met behulp van infectieuze cDNA methodieken. (CGM/020318-06)
27. VROM (2004). Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen.
28. Yamada K *et al.* (2006). Multigenic relation to the attenuation of rabies virus. *Microbiol. Immunol.* 50:25-32
29. Shimizu K *et al.* (2007). Involvement of nucleoprotein, phosphoprotein, and matrix protein genes of rabies virus in virulence for adult mice. *Vir. Res.* 132: 154-160
- 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*