

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer Ch.A. Jansen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 15 april 2025
KENMERK CGM/250415-02
ONDERWERP Advies pathogeniteitsclassificatie van pseudorabies virus Bartha K61

Geachte heer Jansen,

Naar aanleiding van een verzoek van het Erasmus Medisch Centrum om de pathogeniteitsklasse van het pseudorabiësvirus (PRV) Bartha K61 te bepalen (IG 250017_001 CA1), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van een vaccinstam van het pseudorabiësvirus (PRV), genaamd Bartha K61. PRV is een herpesvirus dat pseudorabië (de ziekte van Aujeszky) veroorzaakt in varkens. Dit is een ernstige infectieziekte die luchtweg-, neurologische en reproductieve problemen kan veroorzaken. Vooral jonge biggen hebben een grote kans op overlijden, bij oudere varkens zijn de symptomen doorgaans minder ernstig. Infectie van drachtige zeugen met PRV kan leiden tot sterfte van de ongeboren biggen. Ook andere diersoorten (waaronder honden, katten en runderen) kunnen geïnfecteerd raken met PRV, dat altijd leidt tot sterfte. Om varkenshouderijen wereldwijd te beschermen tegen PRV, zijn in het verleden vaccinatiecampagnes opgestart. Eén van de vaccins die effectief is geweest in het uitroeien van PRV is de vaccinstam PRV Bartha K61. In deze vaccinstam zijn veel mutaties en deleties aanwezig ten opzichte van het wildtype PRV, waardoor de stam verzwakt is en geen ziekte meer veroorzaakt in varkens. De COGEM is van oordeel dat de verzwakking van PRV Bartha K61 stabiel is, en ook zijn er geen aanwijzingen bekend van infectie of ziekte bij mensen door deze vaccinstam. De COGEM adviseert daarom om PRV Bartha K61 in te delen in pathogeniteitsklasse 2 als strikt dierpathogeen virus, en op te nemen in Bijlage 4 van de Regeling ggo.

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

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Met het oog op belangenverstrengeling zijn de COGEM leden prof. dr. C.M.F. Dirven en dr. M. de Graaf niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Advies Pathogeniteitsclassificatie van pseudorabies virus (PRV) Bartha K61

COGEM-advies CGM/250415-02

1. Inleiding

In verband met een verzoek van het Erasmus Medisch Centrum (IG 250017_001), is de COGEM gevraagd te adviseren over de pathogeniteitsklasse van de pseudorabies virus (PRV) vaccinstam Bartha K61, voor plaatsing op lijst 4.1 van Bijlage 4 van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (Regeling ggo).¹ Deze bijlage bestaat uit lijsten van micro-organismen die pathogeen zijn voor mens, dier of plant. Lijst 4.1 betreft de indeling in klassen van pathogene virussen.

2. Pathogeniteitsclassificatie Regeling 'genetisch gemodificeerde organismen' (ggo)

Onder de ggo-regelgeving worden bij de pathogeniteitsclassificatie van een micro-organisme de risico's voor mens en milieu in ogenschouw genomen. Daartoe worden de 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. Iedere pathogeniteitsklasse is gekoppeld aan een inperkingsniveau voor werkzaamheden met ggo's van die klasse.

Apathogene micro-organismen worden ingedeeld in *pathogeniteitsklasse 1*. Dergelijke micro-organismen dienen minimaal aan één van de volgende criteria te voldoen:

- a) het micro-organisme behoort niet tot een soort waarvan vertegenwoordigers bekend zijn die ziekteverwekkend zijn voor mens, dier of plant;
- b) het micro-organisme heeft een lange historie van veilig gebruik onder omstandigheden waarbij geen bijzondere inperkende maatregelen worden getroffen;
- c) 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;
- d) van het micro-organisme is het niet-virulente karakter door middel van adequate tests aangetoond.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 2* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ziekte kan veroorzaken, waarvan het onwaarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is, alsmede een micro-organisme dat bij planten een ziekte kan veroorzaken.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 3* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er een effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

Een indeling in *pathogeniteitsklasse 4* is van toepassing op een micro-organisme dat bij mensen of dieren een zeer ernstige ziekte kan veroorzaken, waarvan het waarschijnlijk is dat het zich onder de populatie verspreidt, terwijl er geen effectieve profylaxe, behandeling of bestrijding toepasbaar is.

3. Strikt dierpathogene virussen

Onder de ggo-regelgeving worden micro-organismen ingedeeld in vier pathogeniteitsklassen. Specifiek voor virussen wordt de term ‘strikt dierpathogeen’ toegepast, waarbij onderscheid gemaakt wordt tussen virussen die uitsluitend pathogeen zijn voor dieren, en virussen die pathogeen zijn voor zowel dieren als mensen. In 2014 heeft de COGEM een definitie geformuleerd die zij hanteert voor de inschaling van een virus als strikt dierpathogeen.² Deze definitie is in 2023 door de COGEM aangescherpt,³ en luidt als volgt:

Een strikt dierpathogeen virus is een virus met een dier als primaire gastheer waarbij infectie, al dan niet gevolgd door ziekte, bij de mens nooit is waargenomen en niet waarschijnlijk is, tenzij onder uitzonderlijke omstandigheden.

De overweging die de COGEM hanteert om dierpathogenen te classificeren wijkt op enkele punten af van die van humaanpathogenen. In 2014 heeft de COGEM in een signalering inzicht geboden in haar overweging bij de classificatie van dierpathogene micro-organismen, en aangegeven welke aspecten een rol spelen in haar oordeel.⁴ De classificatie van dierpathogene micro-organismen is gebaseerd op vier elementen:

- a) het ziekmakende potentieel;
- b) de enzoötische aanwezigheid;
- c) het verspreidingspotentieel van het betreffende micro-organisme;
- d) de mogelijkheden om verspreiding in te perken.

Deze elementen belichten specifieke kenmerken van het betreffende micro-organisme en vormen ieder een onderdeel van de totale classificatie. De COGEM benadrukt hierbij dat geen van de elementen afzonderlijk een doorslaggevende rol heeft, maar altijd in samenhang met elkaar tot een classificatie leidt.

4. Achtergrondinformatie pseudorabies virus

Het pseudorabies virus (PRV, species *Varicellovirus suidalpha1*, SuAHV1) is een herpesvirus uit de familie *Orthoherpesviridae*, genus *Varicellovirus*.⁵ Deze herpesvirussen hebben een lineair dubbelstrengs DNA-genoom ingepakt in een eiwitmantel (capside) dat ingebed is in matrix-eiwitten en omgeven is door een lipidemembraan met de virale glycoproteïnen. Het genoom is ongeveer 143 kb lang en bestaat uit een ‘unique long region’ (UL) en een ‘unique short region’ (US) die geflankeerd worden door interne (IRS) en terminale (TRS) repeat-sequenties. Het genoom codeert voor meer dan 70 eiwitten. Kenmerkend voor orthoherpesvirussen is dat zij na de initiële infectie levenslang latent aanwezig kunnen blijven, waarbij gedurende de latente fase weinig tot geen expressie van virale genen plaatsvindt.⁶

Het pseudorabies virus veroorzaakt pseudorabiës, ook wel bekend als de ziekte van Aujeszky (AD), in varkens. Dit is een ernstige infectieziekte die respiratoire, neurologische en reproductieve problemen kan veroorzaken. Varkens raken geïnfecteerd via het keel- en neusslijmvlies, waar het virus kan

repliceren. Via het neusslijmvliesepitheel kunnen de virusdeeltjes neuronen bereiken en door retrograde neuronaal transport (richting het cellichaam) in de perifere ganglioncellen en reukkolf (*bulbus olfactorius*) terecht komen. Hier kunnen de virusdeeltjes een latente infectie veroorzaken.^{7,8} Door externe factoren zoals stress kan het virus opnieuw actief worden en vermenigvuldigen, waarbij virusdeeltjes zich via de neuronen terug naar het slijmvlies verplaatsen (anterograde transport) waar weer virusuitscheiding plaats kan vinden.⁷ In het algemeen blijft in de natuurlijke gastheer (varkens) de infectie beperkt tot het perifere zenuwstelsel. In zeer jonge biggen of immuungecompromitteerde dieren, of niet-natuurlijke gastheren (zoals runderen, honden, katten en knaagdieren) kan de infectie zich ook naar het centrale zenuwstelsel verspreiden.⁹

Voorals jonge biggen zijn vatbaar voor pseudorabiës: zij ontwikkelen sneller neuronale symptomen en de mortaliteit van neonatale biggen kan oplopen tot 100%. Oudere varkens ontwikkelen eerder luchtwegklachten, koorts, en verminderde eetlust en activiteit en soms spierspasmen. PRV kan ook via de placenta de ongeboren foetus bereiken. Infectie van drachtige zeugen met PRV kan leiden tot abortus of sterfte van de foetus.^{7,10}

Transmissie van het virus treedt voornamelijk op door direct contact met orale of nasale secreties, maar kan ook optreden door indirect contact, zoals via mensen, kleding, voertuigen en hulpmiddelen. Het virus kan zich ook aerogeen verspreiden over een afstand van meerdere kilometers.¹¹

Hoewel het varken de natuurlijke gastheer (en tevens reservoir) is van PRV, kunnen veel andere zoogdieren, waaronder honden, katten, paarden, vossen, beren, konijnen en runderen geïnfecteerd raken. Infectie met PRV treedt op door contact met gecontamineerd materiaal of consumptie van geïnfecteerde dieren, en is voor deze dieren dodelijk.^{10,12,13} De niet-natuurlijke gastheren sterven in het algemeen kort na infectie.¹⁴

PRV-infecties bij mensen zijn zeer uitzonderlijk en in het verleden ook wel discutabel geweest door gebrek aan laboratoriumtesten of goede serologische bevestiging. Symptomen die gerapporteerd zijn bij patiënten met een verdenking van een PRV-infectie, betreffen voornamelijk jeuk, pijn, zwelling, problemen met slikken en afters in de mond.¹² Sinds 2017 zijn er in China meerdere gevallen gerapporteerd van mogelijke PRV-infecties bij mensen die in contact zijn geweest met geïnfecteerde varkens, maar is het vaak niet mogelijk gebleken virusdeeltjes te isoleren. Symptomen van deze patiënten betroffen voornamelijk encefalitis en endoftalmitis (ooginfectie).¹² In 2021 is voor het eerst gerapporteerd dat bij één van vier onderzochte patiënten met acute encefalitis een PRV-stam is geïsoleerd uit de cerebrospinale vloeistof, die de naam hSD-1/2019 heeft gekregen.^{8,12,15} Infectie bij mensen is echter een zeer zeldzame gebeurtenis en het mechanisme hierachter blijft onduidelijk. Mogelijk dat problemen met het immuunsysteem hierin een rol spelen.^{12,16}

Van 1993 tot 2007 werd in Nederland verplicht gevaccineerd tegen PRV in varkenshouderijen. De vaccinatiecampagne heeft ertoe geleid dat Nederland vrij is verklaard van pseudorabiës. Ten gevolge hiervan is op 1 januari 2007 een vaccinatieverbod van kracht geworden. Hoewel gedomesticeerde varkens in veel landen vrij zijn verklaard van PRV, blijft PRV endemisch in populaties van wilde zwijnen (*Sus scrofa*) in onder andere Europa en Amerika.¹⁷

5. Pseudorabiesvirus Bartha K61

Eén van de eerste levend geattenuëerde PRV-vaccins die ontwikkeld is, is de vaccinstam Bartha K61. Deze vaccinstam is in 1961 ontwikkeld door seriële passage van PRV op niet-natuurlijke gastheercellen (vermoedelijk kippenembryo fibroblastcellen).^{18,19} PRV Bartha K61 wordt bij varkens goed getolereerd, waarbij geen klinische symptomen anders dan kortdurende temperatuurverhoging worden waargenomen, en geen virus uitgescheiden wordt.²⁰ PRV Bartha K61 is wereldwijd toegepast voor de eradicatie van pseudorabiës onder varkenshouderijen. Hoewel Bartha K61 lange tijd effectief is geweest om de verspreiding van PRV wereldwijd in te perken, lijkt de vaccinstam minder effectief te zijn tegen nieuwere PRV-varianten die sinds 2011 in varkenshouderijen in China zijn opgedoken.^{7,12}

In Bartha K61 heeft een grote deletie in de 'unique short' (U_S-)regio plaatsgevonden, waardoor de genen die coderen voor het gE-glycoproteïne en USg volledig gedeleteerd zijn en een partiële deletie heeft plaatsgevonden van de genen die coderen voor glycoproteïne gI en U_S2.⁷ De glycoproteïnen gI en gE vormen normaliter een heterodimeer, en spelen een grote rol in de virulentie van PRV en het neuronale transport van het cellichaam naar het uiteinde van het axon (anterograde transport). Ook USg speelt een rol in het anterograde transport. Door de deleties is nog wel retrograde transport mogelijk, waardoor de virusdeeltjes wel (perifere) neuronen kunnen bereiken (weliswaar minder efficiënt dan wildtype PRV) en daar latent aanwezig blijven, maar kan na heractivatie geen transport in de tegengestelde richting naar het geïnnerveerde weefsel plaatsvinden waardoor geen uitscheiding van nieuwe virusdeeltjes kan plaatsvinden.⁷

Naast deze deleties zijn er ook andere virulentiefactoren beïnvloed door mutaties in de Bartha K61 vaccinstam, die verder onderzocht zijn omdat reparatie van de U_S-regio niet tot volledig herstel van de virulentie leidde. Zo zijn in Bartha K61 mutaties in het U_L21-gen aangetroffen, resulterend in 3 aminozuurswijzigingen ten opzichte van wildtype PRV. Ook zijn wijzigingen aangetroffen in de functionele domeinen van belangrijke eiwitten, zoals de glycoproteïnen.^{7,21} Naast een reductie van de virulentie, is er ook een verschil in de opgewekte immuunrespons door Bartha K61 ten opzichte van wildtype PRV.⁷

Omdat in Bartha K61 nog wel retrograde neuronale transport mogelijk is, maar geen anterograde transport/verspreiding, wordt de PRV stam Bartha K61 ook als neuronale tracer toegepast in diermodellen. Hiermee kunnen neuronale verbindingen in kaart worden gebracht.^{22,23} Wanneer niet-natuurlijke gastheren (o.a. muizen, ratten en honden) experimenteel geïnfecteerd worden met PRV Bartha K61, blijven zij langer in leven vergeleken met het wildtype virus, maar zullen uiteindelijk alsnog overlijden aan de infectie.^{7,14,22,24}

6. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft eerder over het pseudorabies virus geadviseerd. Het virus is in 2006 als dierpathogeen virus in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld vanwege de destijds heersende vaccinatieplicht bij varkensbedrijven en de aanwezigheid van een immunologisch resistente populatie.²⁵ Een jaar later is de pathogeniteitsclassificatie heroverwogen omdat de vaccinatieplicht dat jaar werd opgeheven.²⁶ Het pseudorabies virus is toen als strikt-dierpathogeen virus in de hogere pathogeniteitsklasse 3 ingedeeld.²⁷ Over de vaccinstam Bartha K61 is nog niet eerder geadviseerd door de COGEM.

7. Overweging en advies

De PRV-vaccinstam Bartha K61 is een geattenuëerde variant van het PRV, verkregen door seriële passage op niet-natuurlijke gastheercellen. Er hebben veel veranderingen in het genoom (mutaties/deleties) plaatsgevonden, waarvan de voornaamste verandering een grote deletie is van de genen die coderen voor bepaalde glycoproteïnen. PRV Bartha K61 is hierdoor sterk geattenuëerd in de natuurlijke gastheer (het varken) en is decennialang wereldwijd ingezet als vaccin tegen pseudorabiës bij varkenshouderijen. Bij verschillende niet-natuurlijke dierlijke gastheren blijkt infectie met PRV Bartha K61 nog steeds dodelijk. Er zijn geen indicaties dat gedurende het jarenlange gebruik als vaccin in varkenshouderijen reversie van PRV Bartha K61 naar een virulenter fenotype is opgetreden. De COGEM is daarom van oordeel dat deze vaccinstam stabiel geattenuëerd is. Ook zijn er bij de COGEM geen aanwijzingen bekend van infectie of ziekte bij mensen door PRV Bartha K61. Zij is daarom van oordeel dat de vaccinstam PVR Bartha K61 als een strikt dierpathogeen virus beschouwd kan worden.

Bovenstaande in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat PRV Bartha K61 verzwakt is ten opzichte van het wildtype PRV. De COGEM adviseert PRV in te delen als strikt dierpathogeen virus in pathogeniteitsklasse 2, en op te nemen op Bijlage 4 van de Regeling ggo.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072> (bezocht op 2 april 2025)
2. COGEM (2014) Inventarisatie van strikt dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/141216-02
3. COGEM (2023). Brief aanpassing definitie strikt dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/231201-03
4. COGEM (2014). Criteria voor de classificatie van dierpathogene micro-organismen. COGEM signalering CGM/141013-02
5. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). History of the taxon species: Pseudorabiesvirus (1998 Release MSL #17). https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=19981501&taxon_name=Pseudorabies%20virus (bezocht: 26 maart 2025)
6. Gatherer *et al.* (2021). ICTV Virus Taxonomy Profile: Herpesviridae 2021, J. Gen. Virol. 102: 001673
7. Delva LJ *et al.* (2020). The attenuated pseudorabies virus vaccine strain Bartha K61: A brief review on the knowledge gathered during 60 years of research. Pathog. 9: doi:10.3390/pathogens9110897
8. Zheng H-H *et al.* (2022). Pseudorabies virus: from pathogenesis to prevention strategies. Viruses 14: 1638
9. Enquist LW *et al.* (2002). Directional spread of an α -herpesvirus in the nervous system. Vet. Med. 86: 5-16
10. Pomeranz ZL *et al.* (2005). Molecular biology of pseudorabies virus: impact on neurovirology and veterinary medicine. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 69: 462-500
11. Hu *et al.* (2023). Airborne transmission of common swine viruses. Porc. Health Manag. 9: 50
12. Bo Z & Li X (2022). A Review of Pseudorabies Virus Variants: Genomics, Vaccination, Transmission, and Zoonotic Potential. Viruses 14: 1003
13. Laval K *et al.* (2018). Virulent Pseudorabies Virus Infection Induces a Specific and Lethal Systemic Inflammatory Response in Mice. J. Virol. 92: 10.1128/jvi.01614-18
14. Liu A *et al.* (2022). Pseudorabies Virus Associations in Wild Animals: Review of Potential Reservoirs for Cross-Host Transmission. Viruses 14: 2254
15. Liu Q *et al.* (2021). A novel human acute encephalitis caused by pseudorabies virus variant strain. Clin. Infect. Dis. 73: e3690-700
16. Skinner GRB *et al.* (2001). The infrequency of transmission of herpesviruses between humans and animals; postulation of an unrecognized protective host mechanism. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 24: 255-269
17. Müller T *et al.* (2011). Pseudorabies virus in wild swine: a global perspective. Arch. Virol. 156: 1691-1705
18. Bartha A (1961). Experiments to reduce the virulence of Aujeszky's virus. Magy. Allatorv. Lapja 16: 42-45
19. Skoda R *et al.* (1964). Immunization against Aujeszky's Disease with Live Vaccine. I. Attenuation of Virus and Some Properties of Attenuated Strains. Acta Virol. 8: 1-9

20. De Leeuw PW & van Oirschot JT (1985). Vaccines against Aujeszky's disease: evaluation of their efficacy under standardized laboratory conditions. *Vet. Quart.* 7: 191-197
21. Szpara ML *et al.* (2011). Wide extent of inter-strain diversity in virulent and vaccine strains of alphaherpesviruses. *PLoS Pathog.* 7: e1002282
22. Enquist LW (2002). Exploiting circuit-specific spread of pseudorabies virus in the central nervous system: insights to pathogenesis and circuit tracers. *J. Infect. Dis.* 186: S209–S214
23. Enquist LW & Card JP (2003). Recent advances in the use of neurotropic viruses for circuit analysis. *Curr. Opin. Neurobiol.* 13: 603-606
24. Lin W *et al.* (2019). Commercial vaccine against pseudorabies virus: A hidden health risk for Dogs. *Vet. Microbiol.* 233: 102-112
25. COGEM (2006). Advies Classificatie van dierpathogene virussen. COGEM advies CGM/060420-04
26. COGEM (2007). Classificatie van het Pseudorabiësvirus. COGEM advies CGM/070626-01
27. COGEM (2024). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene DNA- en RNA-virussen (2024). COGEM advies CGM/241210-02