

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

DATUM 14 juli 2025
KENMERK CGM/250714-01
ONDERWERP Advies Inschaling co-infectiewerkzaamheden met gg-bofvirus en -mazelenvirus

Geachte heer Aartsen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende dossier IG 250053_001, getiteld 'Co-infecties met genetisch gemodificeerd mazelenvirus en genetisch gemodificeerd bofvirus conform bijlage 5', ingediend door het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-)bofvirus en gg-mazelenvirus. De normale (wildtype) bof- en mazelenvirussen zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De twee gg-virussen in deze aanvraag zijn gebaseerd op verzwakte vaccinstammen die ook worden gebruikt in het huidige vaccin tegen de bof, mazelen en rodehond (BMR) dat sinds 1987 onderdeel uitmaakt van het Rijksvaccinatieprogramma. Beide gg-virussen zullen reporter- of markergenen tot expressie brengen. De aanvrager is voornemens om cellen tegelijkertijd te infecteren (co-infectie) met gg-bofvirus en gg-mazelenvirus en wil deze werkzaamheden uitvoeren op ML-II. Tijdens de co-infectiewerkzaamheden zouden twee virussen in theorie genen kunnen uitwisselen (recombinatie), waardoor er mogelijk een ziekteverwekkender virus zou kunnen ontstaan. De verzwakte vaccinstammen van het bof- en mazelenvirus worden al decennialang over de hele wereld samen toegediend via het BMR-vaccin. Dit vaccin kent een lange historie van veilig gebruik. Er zijn geen gevallen bekend waarbij bof- en mazelenvirussen recombineren. De COGEM is van oordeel dat de kans op het ontstaan van een recombinant virus tijdens de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein is en is van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij de voorgenomen werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau verwaarloosbaar klein zijn.



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 eventuele belangenverstrengeling is het COGEM-lid Dr. N. Beerens niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Advies Inschaling co-infectiewerkzaamheden met gg-bofvirus en -mazelenvirus

COGEM-advies CGM/250714-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-)bofvirus en gg-mazelenvirus (IG 250053). Het verzoek is afkomstig van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). De aanvrager is voornemens co-infectie-experimenten uit te voeren in dierlijke cellen met gg-bofvirus en -mazelenvirus. Deze virussen zijn afgeleid van vaccinstammen waarin marker- of reportergenen zijn ingebouwd. Het onderzoek is gericht op het analyseren van de in vitro immuunrespons bij co-infecties met bof- en mazelenvirus, met als doel om de effectiviteit van vaccinaties tegen de virussen verbeteren. De aanvrager verzoekt de voorgenomen werkzaamheden op ML-II uit te mogen voeren.

1. Achtergrondinformatie over het bofvirus

Het bofvirus (*Orthorubulavirus parotidis*, ookwel als Mumps virus of MuV aangeduid) behoort tot het genus *Orthorubulavirus* en de familie van de *Paramyxoviridae*.^{1,2} Er worden 13 verschillende genotypen (A-M) van het virus onderscheiden. Het bofvirus wordt via de luchtwegen overgedragen, bijvoorbeeld door te hoesten of niezen, en is zeer besmettelijk.³ Het bofvirus kan alleen mensen infecteren, en kent geen dierlijk reservoir. Na besmetting infecteert het virus eerst 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.

1.1 Bofvirusgenoom

Het bofvirusdeeltje bevat een negatief-enkelstrengs RNA-genoom en wordt omgeven door een lipidenmembraan. Het virale RNA codeert voor verschillende eiwitten: het hemagglutinine-neuraminidase (HN), het fusie-eiwit (F), het nucleocapside-eiwit (N), het matrix-eiwit (M) en het polymerase-eiwit (L). Daarnaast codeert het virale RNA ook voor het V-eiwit en het 'phospho'-eiwit (P), die worden afgelezen vanaf hetzelfde gen. Het V-eiwit ontstaat doordat tijdens transcriptie het leesraam verschuift (frameshift), door toevoeging van twee guanine-residuen (co-transcriptionele toevoeging), waardoor een ander eiwit ontstaat dan het P-eiwit. Het N-eiwit bindt het RNA-genoom en vormt het nucleocapside. De L- en P-eiwitten zijn beide 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 gastheercel. Het V-eiwit zorgt voor het omzeilen van de aspecifieke afweer van de gastheer.^{4,5}

1.2 Levend-verzwakte bofvaccins

Sinds 1987 is vaccinatie tegen het bofvirus – door het bof- mazelen- en rubellavaccin (BMR-vaccin) – onderdeel van het Rijksvaccinatieprogramma. De huidige gebruikte bofvaccinstam is de Jeryl Lynn-stam.⁶

Vaccinatie geeft bescherming bij ongeveer 90% van de personen.⁷ Ziekte door bof komt daardoor weinig voor, maar zorgt af en toe nog voor uitbraken.⁸ Sinds december 2008 geldt er een meldingsplicht voor de bof. Sinds november 2023 is er een bofuitbraak gaande in gebieden met een lage vaccinatiegraad.⁹

Ondanks dat er alleen gevaccineerd wordt met bofvirus genotype A, worden voldoende neutraliserende antilichamen tegen de genotypen B-M geproduceerd.¹⁰ Hoewel 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, werd er tussen 2009 en 2013 ook een toename van bof-gevallen in de leeftijdsgroep van studenten gezien.^{9,11} Tijdens coronapandemie tussen 2020-2022 werd een sterke daling gezien in de bofbesmettingen, deze zijn waarschijnlijk toe te schrijven aan de destijds geldende coronamaatregelen.

2. Achtergrondinformatie over het mazelenvirus

Het mazelenvirus (*Morbillivirus hominis*, measles virus of MeV) is een zeer besmettelijk virus dat wordt verspreid via aerosolen. De klinische symptomen ontstaan ongeveer twee weken na infectie en bestaan uit koorts, hoesten, neusverkoudheid en bindvliesontsteking van het oog (conjunctivitis), gevolgd door karakteristieke uitslag. Daarnaast wordt mazelen geassocieerd met immuunsuppressie, die resulteert in toegenomen vatbaarheid voor opportunistische infecties.¹² Een MeV-infectie tijdens de zwangerschap kan een verhoogde kans geven op het overlijden van de foetus.¹³

Vaccinatie tegen mazelen is in Nederland opgenomen in het Rijksvaccinatieprogramma.¹⁴ Het MeV is – ondanks de beschikbaarheid van een veilig en kosteneffectief vaccin – jaarlijks verantwoordelijk voor aanzienlijke sterfte. In 2023 waren er wereldwijd 107.500 sterfgevallen als gevolg van mazeleninfecties.¹⁵ De overgrote meerderheid van de sterfgevallen vindt plaats in lage-inkomenslanden met een slecht ontwikkelde gezondheidszorg. De laatste mazelenuitbraak in Nederland was in 2013/2014, waarbij ruim 180 patiënten werden opgenomen in het ziekenhuis, en leidde tot een sterfgeval.¹⁶ Zulke uitbraken komen eens in de tien tot vijftien jaar voor, vooral in gebieden met een lage vaccinatiegraad.

2.1 Measles virus genoom

MeV behoort tot de familie *Paramyxoviridae*, genus *Morbillivirus*. De virusdeeltjes wordt omgeven door een lipidemembraan en bevatten een negatief-enkelstrengs RNA-genoom. Het genoom bevat zes genen die coderen voor de structurele eiwitten ‘nucleocapside’ (N), ‘phospho’ (P), ‘matrix’ (M), ‘fusie’ (F), ‘hemagglutinine’ (H) en ‘large’ (L), en de niet structurele eiwitten C en V.¹⁷

Het nucleocapside-eiwit vormt samen met het RNA-genoom en het RNA-afhankelijke RNA-polymerase (bestaande uit de P- en L-eiwitten) het ribonucleoproteïne-complex. Het M-eiwit bekleedt het binnenoppervlak van het lipidemembraan en is betrokken bij het vrijkomen van het virus uit de cel en de regulatie van de transcriptie. De glycoproteïnes H en F bevinden zich in het lipidemembraan en zijn verantwoordelijk voor de verankering aan, en fusie met de gastheercel.

2.2 Levend-verzwakte mazelenvaccins

MeV werd in 1954 voor het eerst geïsoleerd uit een celcultuur.¹⁸ Uit deze zogenoemde Edmonston wild-type stam werd de levend-verzwakte Edmonston-B vaccinstam geproduceerd die in 1963 op de markt kwam. Later werd deze stam onder meer opgevolgd door de meer verzwakte stammen Edmonston-Enders (ookwel Enders’ Edmonston), Edmonston-Zagreb, Moraten en Schwarz.^{12,19,20,21} De Enders’

Edmonston-stam is de vaccinstam die onderdeel uitmaakt van het huidige bof- mazelen- en rubellavaccin (BMR-vaccin).⁶

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is voornemens om co-infecties uit te voeren met gg-bofvirus en -mazelenvirus. Hiervoor zullen de Edmonston- en Jeryl Lynn-vaccinstammen worden gebruikt die ook onderdeel uitmaken van de BMR-vaccinatie tegen de bof, mazelen en rodehond. Voor de voorgenomen werkzaamheden zullen ook afgeleiden van deze stammen gebruikt worden die deleties en puntmutaties bevatten. In deze gg-virussen zullen marker- of reporterogenen (o.a. EGFP, LacX, luciferase) geïnsereerd worden. De co-infecties zullen plaatsvinden in verschillende soorten humane en dierlijke cellen (o.a. HEK293, HeLa, Vero). Het onderzoek is gericht op het analyseren van de in vitro immuunrespons bij co-infecties met bof- en mazelenvirus, met als doel om de effectiviteit van vaccinaties tegen de virussen verbeteren.

De aanvrager verzoekt de voorgenomen werkzaamheden op ML-II uit te voeren, waarbij de volgende aanvullende voorschriften gehanteerd zullen worden:

- Tijdens de werkzaamheden worden handschoenen tot over de mouw van de werkkleding gedragen;
- Open handelingen worden in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd;
- Medewerkers die zwanger zijn, zijn uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden.

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft in 2013 het bofvirus ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.²² In dit advies heeft de COGEM tevens geadviseerd over in vitro werkzaamheden waarbij animale cellen geïnfecteerd werden met gg-bofvirusstammen: rMuV-JL5 (afgeleid van de Jeryl Lynn-vaccinstam), rMuV-Gog en rMuV-09-EGFP (afgeleid van een wildtype stam). De COGEM adviseerde op grond van de inschaling van het bofvirus in pathogeniteitsklasse 2 deze werkzaamheden op ML-II uit te voeren met inachtnaam van de volgende maatregelen:

- 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.

Het mazelenvirus is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.²³ In 2012 en 2016 heeft de COGEM geadviseerd over werkzaamheden met het gg-mazelenvirussen die afgeleid waren van de Edmonston-vaccinstam (Edmonston-Zagreb en Schwarz).^{24,25} In de gg-virussen waren de oppervlakte-eiwitten van het mazelenvirus vervangen door die van Human respiratory syncytial virus (RSV), het bofvirus,²⁴ of Zika virus.²⁵ De COGEM concludeerde in beide gevallen dat de uitgangsstam sterk verzwakt was, een historie van veilig gebruik kent en achtte het onwaarschijnlijk dat insertie van de eiwitten de (gehele) attenuatie van de vaccinstammen teniet zouden doen. De COGEM was daarom van oordeel dat de werkzaamheden op ML-II en DM-II inperkingniveau uitgevoerd konden worden. Voor ML-II werkzaamheden werden de volgende voorwaarden gesteld:

- open handelingen dienen in een veiligheidskabinet van klasse-II uitgevoerd te worden;
- het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is verplicht.

Daarnaast heeft de COGEM in 2020 advies uitgebracht over grootschalige productie en kleinschalige werkzaamheden (bestaande uit kwaliteitscontroles) met een gg-mazelen Schwarz-vaccinstam waarin het S-eiwit van SARS-CoV-2 werd geïnserieerd.²⁶ De COGEM adviseerde de productiewerkzaamheden met het gg-MeV-CoV2-S vaccin met inbegrip van extra aanvullende maatregelen op ML-III in te schalen en de kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus, met inachtneming van de hierboven genoemde aanvullende voorschriften, op ML-II inperkingsniveau in te schalen.

5. Overweging en advies

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van in vitro co-infectiewerkzaamheden waarbij humane of dierlijke cellen gelijktijdig geïnfecteerd zullen worden met zowel gg-bofvirus als gg-mazelenvirus afgeleid van vaccinstammen die marker- of reporter genen tot expressie zullen brengen. De aanvrager verzoekt de werkzaamheden op ML-II uit te voeren, waarbij een aantal aanvullende voorschriften gehanteerd zullen worden.

De aanvrager geeft aan dat de uitgangsvirussen voor de voorgenomen co-infectiewerkzaamheden de verzwakte Edmonston- en Jeryl Lynn vaccinstammen zijn die ook onderdeel uitmaken van het huidige BMR-vaccin tegen de bof, mazelen en rodehond. De COGEM gaat ervan uit dat specifiek de Enders' Edmonston vaccinstam, de stam die in het BMR-vaccin zit, het uitgangsvirus is voor het gg-mazelenvirus bij de voorgenomen werkzaamheden. Van het BMR-vaccin zijn wereldwijd al meer dan 575 miljoen doses toegediend.²⁷ In Nederland is het BMR-vaccin sinds 1987 onderdeel van het Rijksvaccinatieprogramma. Het BMR-vaccin kent een decennialange historie van veilig gebruik. De veiligheid hiervan wordt blijvend gemonitord door verschillende gezondheidsorganisaties en is aangetoond in verschillende review studies.^{27,28,29,30}

Theoretisch bestaat er bij co-infectie van een cel met twee virussen de kans dat een chimeer virus ontstaat wanneer in deze cel recombinatie tussen de virussen optreedt. Over het algemeen vertonen negatieve enkelstrengs RNA-virussen zonder gesegmenteerd genoom van nature een zeer lage frequentie van recombinatie.³¹ Het bof- en mazelenvirus behoren weliswaar tot dezelfde familie, maar behoren tot verschillende genera. Recombinatie tussen negatieve-strengs RNA-virussen van verschillende genera is, voor zover bekend bij de COGEM, nog nooit beschreven. In de historie van veilig gebruik van het BMR-vaccin is het ontstaan van chimere virussen door recombinatie tussen de bof- en mazelen vaccinstammen bovendien nooit gerapporteerd. De COGEM is van oordeel dat de kans op het ontstaan van chimere virussen tijdens de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein is.

In laboratoriumexperimenten zijn met behulp van 'reverse genetics' chimere mazelenvirussen geconstrueerd die de oppervlakte-eiwitten (glycoproteïnen HN of F) van het bofvirus tot expressie brengen.³² Deze chimere virussen, gebaseerd op een mazelenvaccinstam, vertoonden echter een sterk verminderde replicatie in celculturen. Daarnaast bleek de variant met het F-glycoproteïne genetisch instabiel: onder negatieve selectiedruk verloor het chimeer het bof-transgen na 5 tot 10 passages. Daarom is het zeer onwaarschijnlijk dat een virulenter chimeer virus zou ontstaan in het theoretische geval dat recombinatie tussen de twee verzwakte gg-virussen op zou treden.

Het bovenstaande in overweging nemende, stemt de COGEM in met de door de aanvrager voorgestelde inschaling van de werkzaamheden op ML-II, waarbij de volgende aanvullende voorschriften gehanteerd worden:

- Tijdens de werkzaamheden worden handschoenen tot over de mouw van de werkkleding gedragen;
- Open handelingen worden in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd;
- Medewerkers die zwanger zijn, zijn uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden.

De COGEM is van oordeel dat bij uitvoering van de voorgenomen werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II, onder navolging van de hierboven genoemde aanvullende voorschriften, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. ICTV. Genus: *Orthorubulavirus*. <https://ictv.global/report/chapter/paramyxoviridae/paramyxoviridae/orthorubulavirus> (bezocht: 8 juli 2025)
2. 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
3. Opstelten W et al. (2012). Bof, terug van weggeweest. Ned. Tijdschr. Geneesk. 156: A5187
4. Rubin S & Vandermeulen C (2011). Mumps virus. Uit: The biology of Paramyxoviruses 5-36, Norfolk, UK, Caister Academic Press
5. Chambers P et al. (2009). Molecular differences between two Jeryl Lynn mumps virus vaccine component strains, JL5 and JL2. J Gen Virol. 90: 2973-2981
6. European Medicines Agency (EMA). M-M-RVaxPro Bijlage 1 Samenvatting van de productkenmerken. https://www.ema.europa.eu/nl/documents/product-information/m-m-rvaxpro-epar-product-information_nl.pdf (bezocht op 30-6-2025)
7. Mclean HQ et al. (2010). Mumps. World Health Organization
8. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Bof. <https://www.rivm.nl/bof> (bezocht: 2 juli 2025)
9. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Actuele cijfers bof in Nederland. <https://www.rivm.nl/bof/actuele-cijfers-bof-in-nederland> (bezocht: 1 juli 2025)
10. Rubin SA et al. (2012). Recent mumps outbreaks in vaccinated populations: no evidence of immune escape. J. Virol. 86: 615-620
11. Sane J et al. (2014) Epidemic of Mumps among vaccinated persons, the Netherlands, 2009–2012. Emerg. Infect. Dis. 20: 643
12. Griffin DE (2013). Measles virus. In: Fields virology, 6th edition. Ed. Knipe DM et al., Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
13. Ornoy A & Tenenbaum (2006). Pregnancy outcome following infections by coxsackie, echo, measles, mumps, hepatitis, polio and encephalitis viruses. Reprod. Toxicol. 21: 446-457
14. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Rijksvaccinatieprogramma. www.rijksvaccinatieprogramma.nl (bezocht: 1 juli 2025)
15. World Health Organization (2024). Measles fact sheet. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/ (bezocht: 1 juli 2025)
16. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Actuele cijfers mazelen. <https://www.rivm.nl/mazelen/actueel> (bezocht: 2 juli 2025)
17. Wang LF et al. (2012). Family Paramyxoviridae. In Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. King AMQ et al., Elsevier Academic Press, Amsterdam
18. Enders JF & Peebles TC. (1954) Propagation in tissue cultures of cytopathic agents from patients with measles. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86: 277-286
19. Schwarz A (1962) Preliminary tests of a highly attenuated measles vaccine. Am. J. Dis. Child. 103: 216-219
20. De Vries et al. (2008). Measles vaccination: new strategies and formulations. Expert. Rev. Vaccines. 7: 1215-1223
21. Schwarz A (1962). Preliminary tests of a highly attenuated measles vaccine. Am. J. Dis. Child. 103: 216-219
22. COGEM (2013). Advies: Classificatie bofvirus. COGEM-advies CGM/130528-01
23. COGEM (2024). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten van virussen. COGEM-advies CGM/241210-02
24. COGEM (2012). Productie van gg-Measles virus met heterologe oppervlakte-eiwitten. COGEM-advies CGM/121206-01
25. COGEM (2016). Advies: Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd Measles virus. COGEM-advies CGM/160711-02

26. COGEM (2020). Advies inschaling productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S kandidaatvaccin tegen COVID-19. COGEM-advies CGM/201111-01
27. Lievano F et al. (2012). Measles, mumps, and rubella virus vaccine (M–M–R™ II): a review of 32 years of clinical and postmarketing experience. *Vaccine* 30: 6918-6926
28. Bijwerkingencentrum Lareb. Informatie over bmr vaccin. <https://www.lareb.nl/vaccin-kennis/results?zoekterm=bmr+vaccin> (bezocht: 7 juli 2025)
29. CDC. Measles, Mumps, Rubella (MMR) Vaccine Safety. <https://www.cdc.gov/vaccine-safety/vaccines/mmr.html> (bezocht: 7 juli 2025)
30. Di Pietrantonj C et al. (2020). Vaccines for measles, mumps, rubella, and varicella in children. *Cochrane Database Syst. Rev.*
31. Pérez-Losada M et al. (2015). Recombination in viruses: mechanisms, methods of study, and evolutionary consequences. *Infect. Genet. Evol.* 30: 296-307
32. Wang Z et al. (2001). Recombinant measles viruses expressing heterologous antigens of mumps and simian immunodeficiency viruses. *Vaccine* 19: 2329-2336