

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Milieu  
Mevrouw S.A.M. Dijkma  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 06 juli 2017

**KENMERK** CGM/170706-02

**ONDERWERP** Advies klinische studie met een genetisch gemodificeerd Human respiratory syncytial virus vaccin (CHDR)

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag (IM-MV 16-013\_000) met de titel: 'Clinical evaluation of live attenuated Human Respiratory Syncytial Virus (RSV) candidate vaccines based on a genetically modified RSV lacking the coding sequence for the attachment protein G' van het Centre for Human Drug Research te Leiden, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd om te adviseren over een klinische studie in gezonde volwassen proefpersonen voor het bepalen van de veiligheid en immunogeniteit van een levend verzwakt genetisch gemodificeerd (gg)-Human respiratory syncytial virus (RSV) vaccin. Hierbij wordt de replicatie en de uitscheiding van dit gg-virus bestudeerd.

RSV veroorzaakt één van de meest voorkomende lage luchtweginfecties. Meestal resulteert infectie met RSV in milde symptomen in kinderen en volwassenen, maar 2-5% van de jonge kinderen en zuigelingen kan ernstige bronchitis ontwikkelen met ziekenhuisopname tot gevolg. Ook in individuen met een verzwakt afweersysteem en in kwetsbare ouderen kan RSV infectie ernstige complicaties geven.

Het gg-RSV dat als vaccin in deze studie wordt toegediend, is ten opzichte van het wildtype virus gewijzigd door de coderende sequentie voor het G-eiwit te verwijderen. Door de afwezigheid van het G-eiwit, dat mede zorgt voor het replicatiepotentieel en de infectiviteit van het virus, en het onderdrukken en vermijden van het afweersysteem, wordt verwacht dat vaccinatie met gg-RSV een beschermende afweerreactie tegen wildtype RSV kan induceren.

De COGEM is van oordeel dat gg-RSV door het ontbreken van het G-eiwit minder pathogeen is dan wildtype RSV. Daarnaast acht zij de kans verwaarloosbaar klein dat door recombinatie een recombinant RSV ontstaat dat, ten opzichte van wildtype RSV, een verhoogd risico heeft voor mens en milieu. Wel acht zij het noodzakelijk dat medisch personeel bij de toediening van het vaccin door middel van een neusspray, neus- en mondbescherming draagt om blootstelling te voorkomen, omdat uitscheiding en verspreiding van gg-RSV na vaccinatie waarschijnlijk is. Daarnaast dient laboratoriumpersoneel werkzaamheden met mogelijk gg-RSV-bevattend biologisch materiaal uit te voeren in een klasse II veiligheidskabinet.

Op basis van bovenstaande gegevens en onder navolging van enkele genoemde voorschriften is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met gg-RSV 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. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo  
                  Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

# Klinische studie met een genetisch gemodificeerd Human respiratory syncytial virus (RSV) vaccin

## COGEM advies CGM/170706-02

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag voor een klinische studie in gezonde volwassen proefpersonen met een levend verzwakt, genetisch gemodificeerd (gg)-Human respiratory syncytial virus (RSV) vaccin. De virale vector die in deze studie wordt gebruikt is afgeleid van wildtype RSV, waarbij het gen coderend voor het G-eiwit verwijderd is. Het doel van de klinische studie is om de veiligheid en immunogeniteit van het ontwikkelde vaccin te testen, waarbij replicatie en 'shedding' (uitscheiding) van het gemodificeerde virus bestudeerd worden.

De werkzaamheden voor deze studie worden ten dele in het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC) en ten dele in het Centre for Human Drug Research (CHDR) te Leiden uitgevoerd. Elk van deze rechtspersonen heeft voor zijn deel van deze studie een aparte vergunningaanvraag ingediend met dezelfde inhoud. De COGEM is door Bureau GGO per locatie om advies gevraagd. Het onderhavige advies betreft de aanvraag van het CHDR (IM-MV 16-013) en is een kopie van het advies aan het LUMC dat betrekking heeft op deze klinische studie.

#### 1.1 Human respiratory syncytial virus (RSV)

RSV is een negatief enkelstrengs RNA virus in de familie van de *Pneumoviridae*, genus *Orthopneumovirus*, dat alleen pathogeen is voor mensen. Recentelijk heeft de 'International Committee on Taxonomy of Viruses' (ICTV) een nieuwe naam gegeven aan RSV, namelijk *Human orthopneumovirus*. Het virus is geclassificeerd als een klasse 2 pathogeen en veroorzaakt één van de meest voorkomende lage luchtweginfecties in zuigelingen en jonge kinderen. Meestal resulteert infectie met RSV in milde symptomen in kinderen en volwassenen, maar 2-5% van de jonge kinderen en zuigelingen kan ernstige bronchitis ontwikkelen met ziekenhuisopname tot gevolg. Ook kan RSV ernstige infecties in de lage luchtwegen van ouderen veroorzaken, meestal in combinatie met andere ziekten, zoals chronisch obstructieve longziekten of hartfalen.<sup>1</sup> RSV is een zeer infectieus virus, waarbij directe besmetting via contact met besmette oppervlakken een belangrijkere rol speelt dan aëroge verspreiding via niezen of hoesten.<sup>2</sup> Het virus wordt doorgaans 3 tot 8 dagen vanaf het moment van infectie uitgescheiden, maar uitscheiding kan in jonge kinderen of immuungecompromitteerden 3 tot 4 weken duren.<sup>3</sup> Het virus infecteert voornamelijk type I alveolaire en niet-basilaire luchtepitheelcellen in de neuskeelholte, en mogelijk ook alveolaire macrofagen.<sup>4</sup> Nagenoeg alle personen ouder dan 2 jaar zijn in aanraking geweest met RSV.<sup>5</sup> Immuniteit tegen RSV is niet volledig beschermend en her-infectie met RSV komt herhaaldelijk voor.<sup>6</sup>

#### 1.2 Genomische organisatie van RSV

Het genoom van RSV codeert voor 11 virale eiwitten. Het betreft de non-structurele eiwitten NS1 en NS2 die alleen na infectie in de gastheercel tot expressie komen, de N, P, M, M2-1, M2-2 en L eiwitten die betrokken zijn bij transcriptie, replicatie en budding, en de SH, F (fusion glycoprotein) en

G (attachment glycoprotein) eiwitten betrokken bij binding aan, en infectie van een targetcel.<sup>7</sup> Het F-eiwit zorgt voor fusie van het virus met het membraan van een gastheercel, waarna het RSV genoom de cel kan binnendringen. Het G-eiwit zorgt voor binding van RSV aan een gastheercel en is daarnaast van belang voor virale replicatie.<sup>8,9</sup> RSV produceert twee varianten van het G-eiwit, een membraangebonden variant (Gmem) en een gesecreteerde variant (Gs). Door de hoge graad van glycosylering onderdrukt Gmem de immuun-gemedieerde herkenning van RSV.<sup>10</sup> Daarnaast onderdrukt Gmem het aangeboren (innate) immuunsysteem.<sup>11,12</sup> Secretie van Gs dient als een ‘decoy’ voor antilichaam-gemedieerde immuunreacties tijdens een RSV infectie.<sup>13</sup> Recombinant RSV met intact F-eiwit maar zonder functioneel G-eiwit kan nog wel repliceren *in vitro*. Echter, replicatie is wel verminderd ten opzichte van wildtype RSV. Daarnaast is dit recombinante virus sterk geattenuëerd *in vivo*.<sup>14</sup>

### 1.3 De ggo's: RSVΔG en G-RSVΔG

In deze klinische studie wordt gebruik gemaakt van twee genetisch gemodificeerde organismen (ggo's), RSVΔG en G-RSVΔG, die gebaseerd zijn op een klinisch isolaat van wildtype RSV: RSV98-25147-X (RSV-X). RSVΔG is een recombinant RSV waarvan het gen coderend voor het G-eiwit is verwijderd. Door de afwezigheid van het G-eiwit is replicatie van RSVΔG sterk gereduceerd.<sup>15</sup> RSVΔG wordt in Vero-G cellen gepseudotypeerd met het G-eiwit (Gmem), zodat uiteindelijk G-RSVΔG ontstaat. Dit ggo is dus een recombinant RSV inclusief G-eiwitten op het oppervlakte van het virusdeeltje, maar waarbij op genetisch niveau de coderende sequentie voor het G-eiwit ontbreekt. G-RSVΔG kan gastheercellen infecteren na vaccinatie (vanwege de aanwezigheid van het G-eiwit) en zich daarin repliceren. De RSVΔG virusdeeltjes die na replicatie gevormd worden, hebben een verminderde bindingscapaciteit aan gastheercellen, maar blijken nog wel epitheliale gastheercellen te kunnen infecteren op basis van bevindingen in zowel *in vitro* als *in vivo* studies.<sup>15,16,17</sup>

Naast het ontbreken van de coderende sequentie voor het G-eiwit, bevat het genoom van G-RSVΔG een aantal additionele mutaties ten opzichte van het klinische isolaat RSV-X. Dit betreft drie aangebrachte restrictiesites in niet-coderende regio's en twee aangebrachte puntmutaties (ten behoeve van primer design) die ook voorkomen in verscheidene wildtype RSV stammen. Ook zijn er zeven spontane mutaties gevonden in RSVΔG ten opzichte van RSV-X, wat niet ongebruikelijk is aangezien RNA virussen een relatief hoge mutatiefrequentie kunnen hebben.<sup>18</sup> Van deze spontane mutaties zijn er vier die zich buiten de open leesramen bevinden, één puntmutatie in het open leesraam van het NS1-gen welke niet tot een aminozuurverandering leidt, en twee puntmutaties in het open leesraam van het F-gen die beide wel tot een veranderd aminozuur leiden. Deze mutaties zouden volgens de aanvrager niet resulteren in veranderingen die kritiek zijn voor de functie of immunogeniteit van het F-eiwit.

## 2. Voorgenomen werkzaamheden

RSVΔG wordt verkregen door gebruik te maken van Hep-2 cellen die geïnfecteerd zijn met Modified vaccinia virus Ankara (MVA) die het T7 RNA polymerase tot expressie brengt (MVA-T7). Deze cellen worden getransfecteerd met vier plasmiden. pRSV-XΔG bevat het RSVΔG virusgenoom, terwijl de plasmiden pcDNA6 V5 His C\_RSV A2\_N, pcDNA3-RSV A2\_P en pcDNA6 V5-His

B\_RSV A2\_L respectievelijk de RSV eiwitten N, P en L tot expressie brengen. Het verkregen RSVΔG wordt vervolgens vermeerderd door Vero cellen te infecteren. Door drie achtereenvolgende plaquepurificaties wordt RSVΔG gezuiverd, zodat aanwezigheid van MVA-T7 of andere virussen wordt voorkomen. Vervolgens worden door vermeerdering op Vero cellen of Vero-G cellen (produceren het Gmem-eiwit) respectievelijk de GMP-batches van RSVΔG en G-RSVΔG gegenereerd. De productie van de ggo's vindt plaats door derden onder vergunning IG 13-018 en maakt geen onderdeel uit van de onderhavige aanvraag.

De aanvrager is voornemens om G-RSVΔG aan 600 gezonde volwassen proefpersonen toe te dienen in een fase I klinische studie om de veiligheid en immunogeniteit van het vaccin te bepalen en om te bestuderen of, en in welke mate, replicatie en shedding van het gemodificeerde virus plaatsvindt. Het vaccin wordt aan de proefpersonen toegediend middels een neusspray (verstuiver) in een enkele dosis variërend van  $1 \times 10^4$  CCID50 ('50% cell culture infective dose') tot  $1 \times 10^8$  CCID50. Indien het vaccin veilig blijkt, dat wil zeggen dat replicatie in proefpersonen niet of nauwelijks detecteerbaar is, dan verhoogt de aanvrager in vervolgstudies met volwassenen de dosis naar  $1 \times 10^8$  CCID50 tot  $1 \times 10^{11}$  CCID50. Het aantal toedieningen wordt dan verhoogd naar 2 of 3, met een tussenpoos van minimaal 2 weken tussen iedere toediening.

De aanvrager includeert volwassen proefpersonen, die gezond en immunocompetent zijn. Als additioneel inclusie criterium in de eerste trials hanteert de aanvrager dat in de eerste twee weken na vaccinatie de proefpersonen geen direct contact mogen hebben met kinderen jonger dan 2 jaar en met immuungecompromitteerde individuen. De aanvrager is voornemens in vervolgstudies dit exclusie criterium te laten vervallen indien er na vaccinatie geen shedding van recombinant RSV aangetoond wordt. Proefpersonen zullen na vaccinatie niet in het ziekenhuis opgenomen worden.

Na vaccinatie worden door de aanvrager verscheidene lichaamsmaterialen afgenomen bij de proefpersonen. Neusuitstrijkjes en neusspoelingen worden uitgevoerd om virustiters te bepalen en vast te stellen of er shedding en replicatie plaatsvindt van gg-RSV. Daarnaast wordt bloed afgenomen en urine verzameld van de proefpersonen.

### **3. Eerder COGEM advies**

De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over klinische studies waarbij een levend verzwakt RSV vaccin werd getest. Wel heeft de COGEM eerder geadviseerd over werkzaamheden met RSV-X en RSV-ΔG.<sup>19</sup> Hierbij adviseerde de COGEM om niet tot omlaagschaling van werkzaamheden over te gaan van inperkingsniveau II naar I. De COGEM kwam tot dit oordeel omdat in die vergunningaanvraag de aangebrachte nucleotidenwijzigingen in de betreffende recombinante virussen niet werden gespecificeerd, waardoor de moleculaire basis van de veronderstelde attenuatie ontbrak. Tevens waren de aangeleverde gegevens over experimenten in cellijnen en katoenratten niet eenduidig te interpreteren, onder andere vanwege het ontbreken van een statistische onderbouwing. Ook toonden enkele experimenten aan dat de recombinante virussen nog steeds in staat waren om zich te vermenigvuldigen in cellen, waardoor verspreiding mogelijk was.

#### 4. Overweging

In de onderhavige aanvraag wordt G-RSVΔG toegediend aan gezonde volwassen proefpersonen. Mogelijke risico's die hierbij kunnen optreden hebben betrekking op de pathogeniteit van het ggo, de mogelijke verspreiding van het ggo in het milieu en de eventuele vorming van nieuwe recombinante virussen. Door de verspreiding zouden andere personen dan de deelnemende proefpersonen geïnfecteerd kunnen worden met het ggo of met een gerecombineerd virus.

##### 4.1 Pathogeniteit

RSV is een veel voorkomend infectieus virus waarmee de gehele populatie al op jonge leeftijd in aanraking komt. Hoewel infectie met RSV bij immunologisch naïeve kinderen, immuungecompromitteerden en kwetsbare ouderen complicaties kan geven, wordt het virus over het algemeen goed verdragen. Het is zeer waarschijnlijk dat alle proefpersonen in aanraking zijn geweest met RSV.<sup>5</sup> De immunologische respons tegen RSV is relatief kortdurend, en binnen enkele weken of maanden zakken de aantallen van antigeen-specifieke T-cellen en anti-RSV antilichamen weg tot niveaus waarop ze verminderde bescherming kunnen bieden tegen her-infectie met RSV. Gedurende zijn leven ondergaat een individu doorgaans meerdere her-infecties met RSV.<sup>6</sup>

RSVΔG en G-RSVΔG zijn gebaseerd op wildtype RSV, waarbij G-RSVΔG gepseudotypeerd is met het G-eiwit. Zowel *in vitro* studies met epitheliale cellen als *in vivo* studies van gevaccineerde katoenratten laten zien dat RSVΔG in beperkte mate kan repliceren in geïnfecteerde cellen.<sup>15</sup> Na vaccinatie van G-RSVΔG ontstaat, door replicatie in gastheercellen, virus zonder het G-eiwit (RSVΔG). RSVΔG heeft een verminderd replicatiepotentieel, maar kan nog wel gastheercellen infecteren.<sup>15,16,17</sup> De COGEM acht zowel G-RSVΔG, alsmede het gerepliceerde virus (RSVΔG) dat *in vivo* ontstaat na vaccinatie, verzwakt. Hierdoor zijn ze minder pathogeen dan wildtype RSV. De COGEM acht het aannemelijk dat gezien de hoge mutatiefrequentie van RNA virussen in de natuur ook spontane deletiemutanten voorkomen van RSV waarin het G-eiwit gedeleteerd is.<sup>18</sup> Er is voor zover bij de COGEM niet bekend dat natuurlijke RSV deletiemutanten zijn geïdentificeerd, die in vergelijking met wildtype RSV een verhoogd risico voor mens en milieu vormen.

##### 4.2 Recombinatie en complementatie

Tijdens het productieproces van G-RSVΔG worden drie plaquepurificaties uitgevoerd. De COGEM acht dit voldoende om contaminatie van het product met de gebruikte plasmiden en MVA-T7 te voorkomen.

Theoretisch bestaat de mogelijkheid dat tijdens het productieproces recombinatie optreedt. De COGEM acht de kans hiertoe verwaarloosbaar klein, omdat recombinatie bij negatief enkelstrengs, niet-gesegmenteerde RNA virussen zeer zeldzaam is.<sup>20,21</sup> Mocht recombinatie toch plaats vinden, dan resulteert dat hooguit in een virus dat overeenkomt met wildtype RSV. Recombinatie draagt daarom geen verhoogd milieurisico met zich mee ten opzichte van wildtype RSV. Dezelfde redenering geldt ook in het geval recombinatie na vaccinatie zou optreden in gastheercellen *in vivo*.

In theorie zou na vaccinatie in een met G-RSVΔG geïnfecteerde gastheercel ook co-infectie met RSV plaats kunnen vinden. Hierbij zou door *in trans* complementatie in deze gastheercellen een virus

gevormd kunnen worden met het genoom van het gemodificeerde virus, ingepakt in de wildtype RSV envelop. Het resulterende virus zou gelijken op wildtype RSV, maar ook de additionele aangebrachte en spontane mutaties bevatten van G-RSVΔG. De COGEM acht het onwaarschijnlijk dat op het moment van de vaccinatie een proefpersoon een (her-)infectie met wildtype RSV doormaakt waarbij dezelfde gastheercellen worden geïnfecteerd. Mocht co-infectie, en dientengevolge complementatie, toch plaatsvinden, dan , dan wordt er geen nieuw virus gevormd en is er geen sprake van een verhoogd milieurisico.

#### 4.3 Moleculaire karakterisering

Tijdens verschillende stadia van het productieproces worden controles uitgevoerd voor verscheidene parameters gerelateerd aan virustiter, identiteit en zuiverheid. Hierbij wordt onder andere een qPCR gebruikt waarbij de coderende sequentie voor zowel het N-eiwit als G-eiwit geamplificeerd wordt. Afwezigheid van een amplificatiesignaal voor de coderende sequentie van het G-eiwit duidt erop dat in de virus batches geen RSV aanwezig is dat het G-eiwit tot expressie brengt. De COGEM merkt op dat de qPCR een lage gevoeligheid heeft gezien de detectieondergrens van  $10^5$  kopieën. Hierdoor valt haar inziens niet uit te sluiten met deze test dat er virusdeeltjes met het G-eiwit aanwezig zijn in de virus batches. Mocht zich in de RSVΔG en G-RSVΔG batches virus bevinden dat het G-eiwit tot expressie brengt, dan acht de COGEM dit uit oogpunt van milieuveiligheid niet problematisch, omdat dit virus, zoals eerder gerefereerd, vergelijkbaar is met wildtype RSV.

De aanvrager heeft RSVΔG en G-RSVΔG op moleculair niveau gekarakteriseerd door middel van ‘deep sequencing’. Hierbij zijn verschillende aangebrachte en spontane mutaties ten opzichte van wildtype RSV geïdentificeerd. De COGEM acht de moleculaire karakterisatie adequaat uitgevoerd en is daarbij van oordeel dat de geïdentificeerde mutaties in RSVΔG en G-RSVΔG niet resulteren in een verhoogd risico voor mens en milieu.

#### 4.4 Replicatie en shedding

Eén van de doelen van de studie is om te bestuderen of replicatie plaatsvindt na vaccinatie met G-RSVΔG. Op basis van bevindingen in de literatuur is het aannemelijk dat replicatie, na infectie van gastheercellen met G-RSVΔG, hoewel beperkt nog wel mogelijk en zelfs wenselijk is om een potente en beschermende afweerreactie op gang te brengen. De gevormde virusdeeltjes (RSVΔG) zijn nog steeds infectieus, maar het replicatiepotentieel van RSVΔG is sterk gereduceerd.<sup>15,16,17</sup>

Uitscheiding van gemodificeerd virus kan op twee manieren plaatsvinden: ‘spillage’ van het toegediende ggo uit de neus en keelholte direct na vaccinatie, en ‘shedding’ van virusdeeltjes (RSVΔG) die na replicatie *in vivo* zijn gevormd. Vaccinatie van proefpersonen wordt bewerkstelligd middels een neusspray. Hierdoor is het aannemelijk dat het ggo zich via aërosolen kan verspreiden. De aanvrager stelt dat standaard voorzorgsmaatregelen (het dragen van handschoenen en beschermende kleding) genomen worden om medisch personeel dat bij de toediening aanwezig is te beschermen. Aangezien in een fase I klinische studie de veiligheid van het toe te dienen product bestudeerd wordt, dient voorop te staan dat het medisch personeel voldoende beschermd is. De COGEM acht het daarom wenselijk dat het medisch personeel bescherming draagt voor neus en mond, zodat onbedoelde infectie door aërosolen van andere personen dan de proefpersoon voorkomen wordt. Aangeraden wordt om het

medisch personeel, naast het dragen van handschoenen en beschermende kleding, een neusmondmasker type FFP3 te laten dragen bij de toediening van het ggo aan de proefpersoon.

De COGEM is van mening dat laboratorium personeel handelingen met potentieel ggo-bevattend biologisch materiaal dient uit te voeren in een klasse II veiligheidskabinet en open handelingen geheel dient te vermijden, totdat aangetoond is dat er geen shedding van het ggo is.

Op basis van studies in katoenratten bleek dat er na vaccinatie nauwelijks sprake was van shedding van RSVΔG.<sup>15</sup> In deze dierstudies werd een dosis van  $1 \times 10^5$  CCID<sub>50</sub> gehanteerd. De aanvrager is van voornemens om de proefpersonen te vaccineren met doses die substantieel hoger zijn. Daarbij dient ook aangemerkt te worden dat humane gastheercellen aanmerkelijk permissiever zijn voor RSV gezien het humane tropisme van het virus. Op basis hiervan wordt de kans groter geacht dat na vaccinatie meer shedding van recombinant virus plaats zal vinden dan op basis van de studies in katoenratten wordt geconcludeerd. Hierbij moet aangetekend worden dat de virusdeeltjes die mogelijk uitgescheiden worden het G-eiwit missen en daardoor sterk geattenuëerd zijn. De COGEM acht de milieurisico's van het geattenuëerde virus verwaarloosbaar klein. Zelfs indien, in het onwaarschijnlijke geval, virus zou worden uitgescheiden als gevolg van recombinatie of *in trans* complementatie *in vivo*, dan acht de COGEM de milieurisico's verwaarloosbaar klein, omdat dit genetisch gemodificeerde virus zich in zeer beperkte mate door de gezonde volwassen populatie zou verspreiden. De voorzorgsmaatregelen om het contact van proefpersonen met risicogroepen (jonge kinderen, immunocompromitteerden, kwetsbare ouderen) te minimaliseren in de eerste twee weken na vaccinatie, acht de COGEM zinvol en zij raadt aan om de proefpersonen een hygiëneprotocol mee te geven, om mogelijke verspreiding van uitgescheiden virus via hoesten, niezen en direct contact verder te verkleinen.

Gebaseerd op bovenstaande is de COGEM van mening dat de risico's van blootstelling van mens en milieu aan het ggo verwaarloosbaar klein zijn.

## 5. Conclusies

Op basis van bovenstaande overwegingen is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze klinische studie met levend verzwakt gg-RSV verwaarloosbaar klein zijn. Hierbij acht zij de volgende maatregelen van belang:

- Medisch personeel dat aanwezig is bij de toediening van het ggo aan de proefpersoon dient ter bescherming een type FFP3 neus-mondmasker te dragen;
- Laboratorium personeel dient handelingen met potentieel ggo-bevattend biologisch materiaal uit te voeren in een klasse II veiligheidskabinet en open handelingen geheel te vermijden, totdat aangetoond is dat de betreffende proefpersoon geen ggo uitscheidt.

## 6. Additionele opmerkingen

- In het kader van de dossieropbouw voor het vervolg van het klinisch onderzoekstraject (fasen II-IV) raadt de COGEM de aanvrager aan om de gevoeligheid van de qPCR ter detectie van de coderende sequentie van het G-eiwit in RSVΔG en G-RSVΔG, te verhogen;



- Daarnaast raadt de COGEM aan, eveneens in het kader van de dossieropbouw, om het tijdstip van een week voorafgaand aan de vaccinatie te benutten om vast te stellen of er mogelijk een actieve RSV infectie plaatsvindt. Dit kan bepaald worden in het bloedmonster dat reeds afgenomen wordt, of additioneel door een neussuitstrijkje of neusspoeling uit te voeren. Een actieve RSV infectie zou kunnen resulteren in een grotere mate van shedding na vaccinatie. De COGEM raadt de aanvrager aan om proefpersonen van deelname uit te sluiten, indien zij een week voor aanvang van de studie een actieve RSV (her-)infectie doormaken.

## Referenties

1. Hall CB *et al.* (2013). Clinical and epidemiological features of respiratory syncytial virus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 372: 39-57
2. Falsey AR & Walsh EE (2000). Respiratory syncytial virus infection in adults. *Clin. Microbiol. Rev.* 13: 371-284
3. Kimberling DW *et al.* (2015). Respiratory Syncytial Virus. In: 2015 Report of the committee on infectious diseases. American Academy of Pediatrics. 667-676
4. Johnson JE *et al.* (2007). The histopathology of fatal untreated human respiratory syncytial virus infection. *Mod. Pathol.* 20: 108-119
5. DeVincenzo JP *et al.* (2010). Viral load drives disease in humans experimentally infected with respiratory syncytial virus. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 182: 1305-1314
6. Openshaw PJM *et al.* (2017). Protective and Harmful Immunity to RSV Infection. *Annu. Rev. Immunol.* 35: 501-532
7. Lee WJ *et al.* (2012). Complete Genome Sequence of Human Respiratory Syncytial Virus Genotype A with a 72-Nucleotide Duplication in the Attachment Protein G Gene. *J. Virol.* 86: 13810-13811
8. Teng MN *et al.* (2001). Contribution of the respiratory syncytial virus G glycoprotein and its secreted and membrane-bound forms to virus replication in vitro and in vivo. *Virology* 289: 283-296
9. Maher CF *et al.* (2004). Recombinant respiratory syncytial virus lacking secreted glycoprotein G is attenuated, non-pathogenic but induces protective immunity. *Microbes Infect.* 6: 1049-1055.
10. van Drunen Littel-van den Hurk S & Watkiss ER (2012). Pathogenesis of respiratory syncytial virus. *Curr. Opin. Virol.* 2: 300-305
11. Tripp RA *et al.* (2001). CX3C chemokine mimicry by respiratory syncytial virus G glycoprotein. *Nat. Immunol.* 2: 732-738
12. Polack FP *et al.* The cysteine-rich region of respiratory syncytial virus attachment protein inhibits innate immunity elicited by the virus and endotoxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102: 8996-9001
13. Bukreyev A *et al.* The secreted form of respiratory syncytial virus G glycoprotein helps the virus evade antibody-mediated restriction of replication by acting as an antigen decoy and through effects on Fc receptor-bearing leukocytes. *J. Virol.* 82: 12191-12204
14. McLellan JS *et al.* (2013). Structure and function of respiratory syncytial virus surface glycoproteins. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 372: 83-104
15. Widjoatmodjo MN *et al.* (2010). A highly attenuated recombinant human respiratory syncytial virus lacking the G protein induces long-lasting protection in cotton rats. *Virol. J.* 7: 114

16. Karron RA *et al.* (1997). Respiratory syncytial virus (RSV) SH and G proteins are not essential for viral replication in vitro: clinical evaluation and molecular characterization of a cold-passaged, attenuated RSV subgroup B mutant. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 94: 13961-13966
17. Schmidt U *et al.* (2002). Mucosal immunization with live recombinant bovine respiratory syncytial virus (BRSV) and recombinant BRSV lacking the envelope glycoprotein G protects against challenge with wild-type BRSV. *J. Virol.* 76: 12355-12359
18. Sanjuán R & Domingo-Calap P (2016). Mechanisms of viral mutation. *Cell Mol. Life Sci.* 73: 4433-4448
19. COGEM (2005). Omlaagschaling van handelingen met een recombinant Respiratory syncytial virus (RSV) naar ML-I en DM-I inperkingsniveau. COGEM advies CGM/051028-01
20. Han GZ & Worobey M (2011). Homologous recombination in negative sense RNA viruses. *Viruses* 3: 1358-1373
21. Spann KM *et al.* (2003). Genetic recombination during coinfection of two mutants of human respiratory syncytial virus. *J. Virol.* 77: 11201-11211