

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

DATUM 22 maart 2017
KENMERK CGM/170322-03
ONDERWERP Vervolgadviesvraag VEEV replicons en noodzaak RCV test

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een recent advies van de COGEM (CGM/170224-01)¹ over omlaagschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Venezuelan equine encephalitis virus* (VEEV) is een aanvullende adviesvraag gesteld over de noodzaak van een aanvullende test bij toekomstige werkzaamheden.

De vergunningaanvrager wil met behulp van een zogenaamd 'VEEV-replicon systeem' vaccinatie experimenten uitvoeren. Hiertoe zijn uit het genoom van VEEV de genen die coderen voor de structurele eiwitten verwijderd en vervangen door onder andere het S-eiwit uit *Porcine epidemic diarrhea virus* (PEDV). Om virusdeeltjes te kunnen produceren worden cellen met het gg-VEEV RNA en twee helper RNA's die coderen voor de structurele eiwitten, getransfecteerd. De op deze wijze ontstane virusdeeltjes kunnen vervolgens gebruikt worden om cellen of dieren te infecteren, maar er kunnen na de initiële infectie geen nieuwe virusdeeltjes worden gevormd omdat de structurele eiwitgenen ontbreken.

In eerste instantie had de COGEM deze experimenten op ML-II en DM-II ingeschaald, omdat op basis van de overlegde informatie niet volledig uitgesloten kon worden dat tijdens het productieproces replicatiecompetente virusdeeltjes (RCV's) konden ontstaan door recombinatie tussen het gg-VEEV RNA en de helper RNA's. De vergunningaanvrager heeft vervolgens gegevens overlegd over onder meer de validatie van de gebruikte test op aanwezigheid van RCV. Aan de hand van deze informatie kwam de COGEM tot oordeel dat

¹ COGEM (2017). Omlaagschaling van in vivo en in vitro werkzaamheden met *Venezuelan equine encephalitis virus* (VEEV) replicons. [Advies CGM/170224-01](#)



de kans op het ontstaan van RCV verwaarloosbaar klein is en dat de werkzaamheden op ML-I en DM-I konden plaatsvinden.

Tevens was aan de COGEM gevraagd of bij toekomstig gebruik van andere (virale) inserties in het hetzelfde gg-VEEV repliconsysteem, andere toedieningsroutes en diersoorten, dezelfde voorwaarden en inperkingsniveaus gehanteerd konden worden. Aangezien het ontstaan van RCV niet gerelateerd is aan de insert, toedieningsroute of de te vaccineren diersoort (mits vrij van VEEV of aanverwante virussen), was de COGEM van oordeel dat de kans op het ontstaan van RCV ook dan verwaarloosbaar klein is en dat ook die werkzaamheden op ML-I of DM-I kunnen plaatsvinden.

Daarnaast schreef de COGEM in haar advies “De COGEM neemt aan dat er voorafgaand aan de toekomstige werkzaamheden een RCV-test uitgevoerd zal worden, welke negatief bevonden moet worden...” Hierdoor is onduidelijkheid ontstaan of een RCV-test naar de mening van de COGEM wel of niet verplicht moet worden gesteld.

Zoals in haar eerdere advies beschreven, acht de COGEM de kans op het ontstaan van RCV in dit specifieke gg-VEEV replicon systeem verwaarloosbaar klein. Zij komt tot dit oordeel omdat er twee onafhankelijke recombinatie gebeurtenissen tussen het gg-VEEV RNA en de helper RNA's moeten optreden om een RCV te laten ontstaan en er beperkte sequentie-overlap is tussen deze RNA's. De kans hierop is daarmee bijzonder klein. Ook heeft de vergunningaanvrager 2.060 batches gecontroleerd, zonder ooit RCV aan te kunnen tonen.

De COGEM merkt op dat het testen op aanwezigheid van RCV's een gebruikelijke procedure is in het kader van 'quality control' en 'good practice'. Vanuit waarborging van de veiligheid voor mens en milieu is een dergelijke test bij gebruik van dit specifieke VEEV replicon/vectorsysteem echter niet per se noodzakelijk.

Concluderend is de COGEM van oordeel dat (toekomstige) werkzaamheden met het onderhavige gg-VEEV repliconsysteem op ML-I of DM-I kunnen plaatsvinden, onafhankelijk van het type insert, en dat een additionele RCV test vanuit milieu-overwegingen niet noodzakelijk is.

Dit onder voorbehoud dat de inserts het inperkende effect van de deleties in het gg-VEEV niet ongedaan maken, zoals het geval zou kunnen zijn bij sequenties van virusspecies uit de *Togaviridae* of de *Rhabdoviridae*. Betreffende de laatste virusgroep wijst de COGEM erop dat expressie van het G-eiwit van het *Vesicular stomatitis Indiana virus* in vergelijkbare Alphavirus repliconsystemen leidt tot de vorming van *virus-like vesicles* die zich van cel tot cel kunnen verspreiden.^{2,3}

2 Rose NF *et al.* (2014). In vitro evolution of high-titer, virus-like vesicles containing a single structural protein. PNAS 111: 16866–16871

3 van den Pol AN *et al.* (2017) Chikungunya, Influenza, Nipah, and Semliki Forest Chimeric viruses with *Vesicular Stomatitis Virus*: Actions in the brain. J. Virol. doi:10.1128/JVI.02154-16



Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid prof. dr. T. Boekhout niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

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