

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Milieu  
Mevrouw W.J. Mansveld  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 23 juli 2015  
**KENMERK** CGM/150723-01  
**ONDERWERP** Advies inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde  
seizoensgebonden humane influenza A virussen

Geachte mevrouw Mansveld,

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag met de titel 'Productie en infectie van Influenza A en B virussen' van ViroClinics BioSciences B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is verzocht te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg) influenza A virussen die homoloog zijn aan bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen. De COGEM is ook gevraagd te adviseren over werkzaamheden die de aanvrager in de toekomst wil uitvoeren met virussen die homoloog zijn aan nieuwe seizoensgebonden humane influenza A virussen. Daarnaast is de COGEM gevraagd om de termen seizoensgebonden griep, pandemische griep en vogelgriep te definiëren.

De COGEM acht het in de korte tijdsperiode die zij voor dit advies heeft niet mogelijk om deze definities in dit advies nader uit te werken en zal daar zo spoedig mogelijk in een advies op terugkomen.

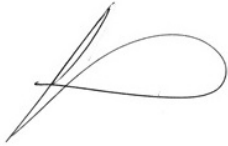
De aanvrager wil de virussen produceren en gebruiken in experimenten zoals virustitratie en hemagglutinatie. Het pandemische influenza A virus uit 1918 en nieuwe pandemische influenza A virussen zullen niet worden geproduceerd. De aanvrager is voornemens om de werkzaamheden met de gg-seizoensgebonden humane influenza A virussen op ML-III inperkingsniveau uit te voeren.

Conform de reguliere classificatie van *Influenza A virus* in pathogeniteitsklasse 3, adviseert de COGEM de laboratoriumactiviteiten met de influenza A virussen die homoloog zijn aan bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen op ML-III inperkingsniveau in te schalen, met inachtneming van enkele aanvullende voorschriften.

Op het bovengenoemde inperkingsniveau en onder navolging van de gestelde aanvullende voorschriften acht de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

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

*Met het oog op eventuele belangverstrengelingen is het COGEM lid prof. dr. R.A.M. Fouchier niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.*

# Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde seizoensgebonden humane influenza A virussen

## COGEM advies CGM/150723-01

### Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) influenza A virussen. De aanvrager wil met 'reverse genetics' virussen produceren die homoloog zijn aan bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen. Behalve virussen die homoloog zijn aan de al bekende humane isolaten wil de aanvrager in de toekomst ook virussen produceren die homoloog zijn aan nieuw ontstane seizoensgebonden humane influenza A virussen.

### *Influenza A virus*

*Influenza A virus* (FLUAV) kan mensen, vogels en zoogdieren infecteren. Bij gezonde mensen kan een infectie zonder ziekteverschijnselen verlopen, maar meestal wordt infectie geassocieerd met milde tot matige symptomen, zoals hoesten, koorts en koude rillingen, spierpijn, hoofdpijn en moeheid (griep). Deze klachten duren enkele dagen tot een week. Bij ouderen en mensen met een onderliggende ziekte kan een infectie met FLUAV leiden tot ernstigere ziekteverschijnselen en een verhoogde kans om te overlijden. Het virus wordt door de lucht via aerosolen overgedragen, maar overdracht kan ook plaatsvinden via direct contact met besmette oppervlakten. Humane influenza A virussen komen wereldwijd voor.<sup>1</sup>

FLUAV heeft een negatief enkelstrengs RNA genoom en behoort tot de familie *Orthomyxoviridae* en het genus *Influenza virus A*.<sup>2</sup> Het RNA genoom van FLUAV bestaat uit acht unieke genoomsegmenten en codeert voor minstens 10 eiwitten, waaronder drie eiwitten die het RNA-polymerase vormen (PB1, PB2 en PA), het nucleoproteïne (NP), de matrixeiwitten M1 en M2 en de niet-structurele eiwitten NS1 en NS2, haemagglutinine (HA) en neuraminidase (NA).<sup>2,3</sup>

Het HA is betrokken bij de aanhechting van het virus aan een gastheercel, terwijl het NA een rol speelt bij het vrijkomen van virusdeeltjes uit een geïnfecteerde cel. Beide eiwitten spelen een belangrijke rol bij de gastheerspecificiteit en de aanmaak van antistoffen tegen FLUAV.<sup>4,5</sup> Tijdens de replicatie van influenzavirussen in de cel worden kleine foutjes gemaakt in het RNA genoom. Bij dit natuurlijke proces van 'antigene drift' ondergaan influenzavirussen genetische veranderingen waardoor het virus niet meer herkend wordt door de aanwezige antistoffen van het afweersysteem. Hierdoor is het noodzakelijk dat ieder jaar het griepvaccin aangepast wordt aan de verwachte circulerende griepvirussen.

Wanneer een cel op hetzelfde moment door verschillende influenza A virussen wordt geïnfecteerd, kunnen genoomsegmenten of delen van genoomsegmenten tussen de virussen uitwisselen. Hierdoor kunnen virussen ontstaan die segmenten van beide virussen bevatten 'reassortanten'. Dit proces wordt 'antigene shift' genoemd en kan ervoor zorgen dat er nieuwe virussen ontstaan die niet eerder bij mensen voorkwamen en waartegen de meeste mensen geen immuniteit hebben.

### **Voorgenomen werkzaamheden**

De aanvrager wil homologen van bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen produceren door de individuele genoomsegmenten in plasmiden achter een CMV promoter te kloneren. De plasmiden die samen de genoomsegmenten voor een influenzavirus bevatten worden vervolgens getransfecteerd in animale cellen waarna virus geproduceerd wordt. Daarnaast wil de aanvrager in de toekomst virussen produceren die homologoog zijn aan nieuw ontstane seizoensgebonden humane influenza A virussen.

De geproduceerde influenza A virussen zijn homologoog aan bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen en zullen worden gebruikt voor verschillende testen (virustitratie, virusneutralisatie, hemagglutinatie, resistentiebepalingen en sequencen). De aanvrager is voornemens om de werkzaamheden met de virussen op ML-III inperkingsniveau uit te voeren. De aanvrager geeft aan dat het pandemische FLUAV uit 1918 en nieuwe pandemische influenza A virussen niet geproduceerd zullen worden.

### **Eerder COGEM advies**

De COGEM heeft in 2004 FLUAV ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.<sup>6</sup> De laag-pathogene influenzastammen A/WSN/33, Port Chalmers/1/73 en Puerto Rico/8/34 zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.<sup>7</sup> In 2005 heeft de COGEM geadviseerd virulentie onderzoek aan onder andere humane H1N1 virussen geïsoleerd voor 1957, humane H2N2 virussen van 1957 tot 1968, en H3N2 virussen geïsoleerd van 1968 tot heden, op ML-III inperkingsniveau in te schalen.<sup>8</sup>

In 2006 heeft de COGEM een generiek advies uitgebracht over aanvullende voorschriften bij werkzaamheden met gg-FLUAV stammen onder ML-III inperking.<sup>9</sup> Zij stelde dat verspreiding dient te worden tegen gegaan en contact met deze virussen geminimaliseerd dient te worden. Om deze reden heeft de COGEM geadviseerd dat:

- Open handelingen plaatsvinden in een klasse-II veiligheidskabinet;
- Medewerkers gevaccineerd dienen te zijn;
- medewerkers met griepsymptomen uitgesloten dienen te worden van deelname aan de werkzaamheden;
- Het dragen van handschoenen verplicht is;
- Bij werkzaamheden met H7 gg-Influenzavirussen een beschermende bril verplicht is;
- Het dragen van een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) verplicht is.

De COGEM is van mening dat de kans op het optreden van een onbedoelde infectie en verspreiding, alsmede de kans op 'reassortanten' van FLUAV, verwaarloosbaar klein is wanneer de werkzaamheden plaatsvinden op ML-III inperkingsniveau onder navolging van deze aanvullende voorschriften.

### **Adviesvraag**

De aanvrager is voornemens experimenten uit te voeren waarbij door middel van ‘*reverse genetics*’ homologen van bekende seizoensgebonden humane influenza A virussen geproduceerd worden. De aanvrager wil behalve deze influenza A virussen ook seizoensgebonden influenza A virussen produceren die in de toekomst voorkomen. Onder bekende seizoensgebonden wild-type humane isolaten worden de volgende virusgroepen gerekend:

- Humane H1N1 virussen die geïsoleerd zijn voor 1957 (met uitzondering van de 1918 stam);
- Humane H2N2 virussen van 1957-1968 (inclusief de humane pandemische 1957 influenza A virusstammen);
- Humane H3N2 virussen van 1968-heden (inclusief de humane pandemische 1968 influenza A virusstammen);
- Humane H1N1 virussen van 1977-heden en humane H1N1 virussen van 2009-heden;
- Seizoensgebonden humane influenza A virussen die zich in de toekomst zullen voordoen.

De aanvrager is voornemens om de werkzaamheden met de op deze isolaten gebaseerde gg-influenzavirussen op ML-III inperkingsniveau uit te voeren. De pandemische influenza A uit 1918 en pandemische influenza A virussen die in de toekomst voorkomen zullen niet geproduceerd worden.

Behalve de inschaling van de werkzaamheden met bekende gg-wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen en de toekomstige werkzaamheden met nieuwe wild-type seizoensgebonden virussen, is de COGEM gevraagd de begrippen seizoensgebonden griep, pandemische griep en vogelgriep te definiëren. De COGEM acht het in de korte tijdsperiode die zij heeft om dit advies af te ronden niet mogelijk om een dergelijke brede vraag te beantwoorden. De COGEM zal zo spoedig mogelijk in een advies de definities voor seizoensgebonden griep, pandemische griep en vogelgriep nader uitwerken.

### **Overweging en advies**

De aanvrager wil via ‘*reverse genetics*’ bekende wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen produceren en gebruiken in experimenten. Vanwege de korte tijdsperiode zal de COGEM in een nieuw advies nader ingaan op de definities van seizoensgebonden griep, pandemische griep en vogelgriep. De aanvrager is voornemens de werkzaamheden op ML-III inperkingsniveau met aanvullende maatregelen uit te voeren. Laboratoriumhandelingen met gg-Influenza A virussen worden op grond van de classificatie van het FLUAV op ML-III inperkingsniveau ingeschaald.

De COGEM adviseert om de laboratoriumactiviteiten met bekende gg-wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen op ML-III inperkingsniveau in te schalen. De COGEM merkt op dat wanneer er tijdens experimenten met meerdere influenzavirussen tegelijkertijd gewerkt wordt, er een risico bestaat dat cellen of proefdieren met meerdere virussen besmet worden en er reassortanten ontstaan. De COGEM wijst erop dat wanneer de normale laboratoriumprocedures

gevolgd worden deze risico's verwaarloosbaar klein zijn. Om eventuele risico's verder te beperken adviseert de COGEM bij de werkzaamheden met bekende gg-wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen de volgende aanvullende voorschriften te hanteren:

- Open handelingen dienen in een veiligheidskabinet van klasse 2 uitgevoerd te worden;
- Medewerkers dienen gevaccineerd te zijn tegen humaan FLUAV die werkzaam is tegen de actueel circulerende stammen;
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden;
- Het dragen van handschoenen is verplicht;
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149) te dragen.

Daarnaast is de COGEM van mening dat in de toekomst werkzaamheden met gg-wild-type seizoensgebonden influenza A virussen die homoloog zijn aan nieuw geïsoleerde wild-type seizoensgebonden humane influenza A virussen met dezelfde aanvullende maatregelen op ML-III inperkingsniveau uitgevoerd kunnen worden.

Onder deze inperkingsniveaus en onder navolging van de genoemde aanvullende voorschriften acht de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

## Referenties

1. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). LCI-richtlijn Influenza. [www.rivm.nl/Documenten\\_en\\_publicaties/Professioneel\\_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI\\_ri chtlijnen/LCI\\_ richtlijn\\_ Influenza](http://www.rivm.nl/Documenten_en_publicaties/Professioneel_Praktisch/Richtlijnen/Infectieziekten/LCI_ri chtlijnen/LCI_ richtlijn_ Influenza) (bezocht: 15-07-2015)
2. McCauley JW *et al.* (2012). The Negative Sense Single Stranded RNA viruses. Family *Orthomyxoviridae*. 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
3. Wright PF *et al.* (2013). *Orthomyxoviruses*. In: *Fields Virology*, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
4. Brown EG (2000). Influenza virus genetics. *Biomed Pharmacother* 54: 196-209
5. Zambon MC (2001). The pathogenesis of influenza in humans. *Rev Med Virol* 11: 227-241
6. COGEM (2004). Inschaling van Influenza A virusstammen. COGEM advies CGM/040326-03
7. COGEM (2014). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen. COGEM advies CGM/141218-02
8. COGEM (2005). Pathogeniteitstudies met recombinante Influenza A virussen. COGEM advies CGM/050201-01
9. COGEM (2006). Aanvullende voorschriften bij werkzaamheden met genetisch gemodificeerde influenza A virussen. COGEM advies CGM/061214-01