

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

BEZOEKADRES:
A. VAN LEEUWENHOEKLAAN 9
3721 MA BILTHOVEN

POSTADRES:
POSTBUS 578
3720 AN BILTHOVEN

TEL.: 030 274 2777
FAX: 030 274 4476
INFO@COGEM.NET
WWW.COGEM.NET

DATUM 21 april 2016
KENMERK CGM/160421-04
ONDERWERP Vervolgadvies m.b.t. werkzaamheden met gg-VSIV

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een vervolgvraag over de omlaagschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde Vesicular stomatitis Indiana virussen, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

Onlangs heeft de COGEM geadviseerd over werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Vesicular stomatitis Indiana virus* (VSIV) dat een eiwit van het *Zaire Ebolavirus* bevat. In dit advies is een aanvullend voorschrift opgenomen dat laboratoriummedewerkers voorschrijft een periode van drie dagen na werkzaamheden met dit gg-VSIV geen contact te hebben met landbouwhuisdieren. Bureau ggo acht dit voorschrift moeilijk hanteerbaar, controleerbaar en handhaafbaar. Naar aanleiding hiervan heeft Bureau ggo de COGEM gevraagd haar advies nader toe te lichten en zomogelijk andere aanvullende maatregelen te adviseren.

Op basis van de beschikbare gegevens concludeert de COGEM dat het betreffende gg-VSIV geattenuerd is in mens en humane primaten. Zij acht het aannemelijk dat het gg-VSIV ook geattenuerd is in landbouwhuisdieren, maar zij kan dit op basis van de uitgevoerde studies niet met zekerheid vaststellen. Om het risico van een eventuele uitsloop van het gg-VSIV te minimaliseren heeft de COGEM geadviseerd de medewerkers een tijdelijke contactbeperking voor landbouwhuisdieren op te leggen. Zij heeft hierbij willen aansluiten bij een in een Europese richtlijn voorgeschreven maatregel betreffende laboratoriumwerkzaamheden met mond-en-klauwzeer. Deze maatregel is ook in het bedrijfsleven en onderzoeksinstellingen gemeengoed bij werkzaamheden met andere dierpathogenen. Als mogelijk alternatief suggereert de COGEM de medewerkers te verplichten na afloop van de werkzaamheden de kleding en schoenen te wisselen en zich te douchen. In een toegevoegde signalering gaat de COGEM in op de controleerbaarheid en handhaafbaarheid van geadviseerde inperkingsmaatregelen.

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 belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. T. Boekhout niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Vervolgadvies m.b.t. omlaagschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg)-*Vesicular stomatitis Indiana virus*

COGEM advies CGM/160421-04

Inleiding

In maart 2016 heeft de COGEM advies uitgebracht over werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Vesicular stomatitis Indiana virus* (VSIV) dat het manteleiwit van het *Zaire Ebolavirus* (ZEBOV) bevat (gg-VSIV-ZEBOV). Bureau GGO stelt dat het door COGEM geadviseerde aanvullende voorschrift dat laboratoriummedewerkers geen contact mogen hebben met landbouwhuisdieren tot drie dagen na het werken met gg-VSIV-ZEBOV, voor de vergunningverlening van ingeperkt gebruik moeilijk hanteerbaar is.

Maatregelen bij ingeperkt gebruik dienen volgens Bureau GGO primair gericht te zijn op het voorkomen van verspreiding van ggo's vanuit het laboratorium in het milieu. Deze maatregelen zouden afdoende moeten zijn. Het is volgens het Bureau niet wenselijk om de inperking van de risico's te moeten realiseren door maatregelen op te leggen die gericht zijn op het minimaliseren van milieurisico's die kunnen optreden indien de inperking niet afdoende is. Daarnaast stelt Bureau GGO dat een dergelijk voorschrift moeilijk controleerbaar en handhaafbaar is.

Op basis van haar problemen met het aanvullende voorschrift, heeft Bureau GGO de volgende aanvullende vragen opgesteld:

1. Eerder heeft de COGEM geadviseerd werkzaamheden met gg-VSIVs die in plaats van het VSIV G manteleiwit het G manteleiwit van het Ebolavirus of het Marburgvirus bevatten op ML-III in te schalen (CGM/120417-02). Dit berustte vooral op het ontbreken van gegevens over attenuatie van de gg-VSIVs in vatbare dierpopulaties. In het onderhavige advies concludeert de COGEM op basis van de studies in mensen en niet-humane primaten dat gg-VSIV-ZEBOV voldoende geattenueerd is om omlaagschaling naar ML-II niveau te rechtvaardigen. Concludeert de COGEM hieruit dat gg-VSIV-ZEBOV ook in vatbare dierpopulaties (inclusief varkens) voldoende is geattenueerd ten opzichte van het wild-type VSIV om omlaagschaling te rechtvaardigen?
2. Wat zijn de risico's van verspreiding van gg-VSIV-ZEBOV naar varkens, grote en kleine herkauwers en paarden? De COGEM wordt verzocht haar antwoord nader te onderbouwen.
3. Achten de COGEM de ML-II werk- en inrichtingsvoorschriften in combinatie met de aanvullende voorschriften om open handelingen in een VK-II kabinet uit te voeren en het dragen van handschoenen niet afdoende om uit te sluiten dat de medewerker gg-VSIV-ZEBOV (onbedoeld) uit het toepassingsgebied (laboratorium) overbrengt in het milieu? Graag een toelichting. Zo niet, welke additionele aanvullende maatregelen dienen te

worden gehanteerd om infectie van de medewerker, dan wel uitsleep via de medewerker uit te sluiten?

Achtergrond bij vraag 1

De COGEM was in haar advies uit 2012 van mening dat de aangeleverde literatuurgegevens niet overtuigend bewezen dat gg-VSIV-ZEBOV voldoende geattenuëerd was ten opzichte van het wild-type VSIV.¹ Conform de classificatie van het VSIV in pathogeniteitsklasse 3 adviseerde de COGEM de werkzaamheden op ML-III inperkingsniveau uit te voeren.¹ Zij baseerde haar mening onder andere op de onderstaande overwegingen:

- Op basis van een studie in muizen achtte de COGEM het aannemelijk dat het recombinante VSIV in muizen verzwakt is ten opzichte van het uitgangsvirus.² De oorzaak van de waargenomen wijziging in pathogeniteit bleef echter onverklaard en het werd niet duidelijk in welke mate het recombinante VSIV geattenuëerd was.
- Bij verschillende studies in niet-humane primaten ontbraken de positieve controles. Hierdoor kon de COGEM niet concluderen dat het gg-VSIV-ZEBOV verzwakt is ten opzichte van het wild-type VSIV in niet-humane primaten.^{3,4}
- De aanvrager stelde dat de attenuatie in de mens bleek uit één gepubliceerde *case study* waarbij één laboratoriummedewerker na accidentele blootstelling aan het Ebolavirus werd behandeld met gg-VSIV-ZEBOV.⁵ De COGEM was destijds van mening dat op basis van één studie waarin slechts één dosis aan één persoon is toegediend, niet geconcludeerd kan worden dat het betreffende recombinante VSIV apathogeen is voor de mens.
- De aanvrager vermeldde dat de recombinante VSIVs geen pathogeniteit lieten zien in geiten. Echter, omdat de resultaten van dit experiment niet inzichtelijk waren voor de COGEM, kon zij niet concluderen dat de recombinante VSIVs in geiten minder pathogeen zijn dan het wild-type VSIV.

In 2016 heeft de COGEM advies uitgebracht over de omlaagschaling van werkzaamheden met gg-VSIV-ZEBOV. Op basis van de huidige wetenschappelijke kennis zag de COGEM geen reden om haar eerdere classificatie van VSIV als klasse 3 dierpathogeen te herzien. Uitgaande van de kennis uit nieuwe vaccinatiestudies concludeerde de COGEM dat het gg-VSIV-ZEBOV geattenuëerd is ten opzichte van het wild-type VSIV in mensen en niet-humane primaten. Daarom heeft zij geadviseerd om de voorgenomen laboratoriumwerkzaamheden van ML-III naar ML-II niveau omlaag te schalen. Zij baseerde haar mening op de onderstaande overwegingen.

- Vanwege de recente ebola-epidemie in West-Afrika zijn tot op heden duizenden mensen gevaccineerd met zowel een hoge als lage dosis van het gg-virus zonder dat er sprake is van sterfte of ernstige bijwerkingen.
- In niet-humane primaten werden geen schadelijke gevolgen geconstateerd na inoculatie van een hoge concentratie gg-VSIV-ZEBOV in de thalamus van deze dieren. Dit in tegenstelling tot apen die werden geïnoculeerd met recombinant wild-type VSIV. Twee

van de drie apen die met recombinant wild-type VSIV werden geïnoculeerd, ontwikkelden klinische symptomen van neurovirulentie.

In het dossier werd ook verwezen naar een studie van de Wit *et al.* Hieruit bleek dat gg-VSIV-ZEBOV in varkens geen ziekteverschijnselen induceerde. De controle groep die met recombinant wildtype-VSIV was geïnoculeerd, vertoonde echter ook geen ziekteverschijnselen. Op basis van deze gegevens kon de COGEM niet met zekerheid concluderen dat gg-VSIV-ZEBOV apathogeen is voor varkens. Vanwege de onzekerheid met betrekking tot de apathogeniteit in varkens en de mogelijke consequenties van uitsleep van het gg-virus naar het milieu, adviseerde de COGEM om onder andere het onderstaande aanvullende voorschrift in acht te nemen:

- laboratoriummedewerkers mogen geen contact hebben met varkens, grote en kleine herkauwers en paarden tot 3 dagen na het werken met gg-VSIV-ZEBOV

Antwoord op vraag 1

Een belangrijk verschil tussen de adviezen uit 2012 en 2016 is dat er inmiddels veel meer ervaring is opgedaan met gg-VSIV-ZEBOV. Tijdens de recente ebola-epidemie zijn duizenden mensen met het gg-virus gevaccineerd zonder dat er sprake was van sterfte of ernstige bijwerkingen. In 2012 was het vaccin slecht aan 1 persoon toegediend na een accidentele blootstelling aan het Ebolavirus.

Er zijn geen aanwijzingen dat inoculatie van het gg-virus in niet-humane primaten schadelijke gevolgen heeft. In 2012 was dit niet met zekerheid te zeggen doordat valide experimenten ontbraken.

In een studie van de Wit *et al.* lijkt gg-VSIV-ZEBOV geen ziekteverschijnselen te veroorzaken in varkens. Echter, door het ontbreken van een goede positieve controle kan de COGEM niet met zekerheid concluderen dat gg-VSIV-ZEBOV ten opzicht van wild-type VSIV geattenuerd is in varkens.

Op basis van de studies in de mens, de studie in niet-humane primaten en de onvolledige studie van de Wit *et al.* concludeert de COGEM dat gg-VSIV-ZEBOV geattenuerd is in mens en niet-humane primaten en acht zij het aannemelijk dat gg-VSIV-ZEBOV geattenuerd is in landbouwhuisdieren als het varken. Uitgaande van deze gegevens acht de COGEM de omlaagshaling van de werkzaamheden van ML-III naar ML-II niveau gerechtvaardigd.

Antwoord op vraag 2

Gezien de wijze van transmissie van het virus en de werkvoorschriften op ML-II niveau acht de COGEM de kans op uitsleep van het virus vanuit het laboratorium zeer klein. Het risico van een dergelijke uitsleep acht de COGEM verwaarloosbaar klein voor mens of niet-humane primaat. Voor landbouwhuisdieren waaronder varkens acht zij het aannemelijk dat gg-VSIV-ZEBOV geattenuerd is, maar op basis van de beschikbare gegevens is dit niet met zekerheid vast te stellen. Zij kan derhalve niet geheel uitsluiten dat een infectie van deze dieren met gg-VSIV-ZEBOV tot

MKZ-achtige symptomen zal leiden. Indien MKZ-achtige symptomen in landbouwhuisdieren worden waargenomen, kan dit leiden tot het instellen van een ‘standstill’ periode of in het uiterste geval tot ruiming.

Antwoord op vraag 3

De COGEM acht het aannemelijk dat gg-VSIV-ZEBOV geattenuëerd is in mens en dier. Zij kan dit voor landbouwhuisdieren op basis van de beschikbare gegevens echter niet met zekerheid vaststellen. Op ML-II inperkingsniveau in combinatie met de aanvullende voorschriften om open handelingen in een VK-II kabinet uit te voeren en tijdens de werkzaamheden handschoenen te dragen, acht de COGEM de kans zeer klein dat het ggo met een medewerker uitgesleept wordt. Om deze kans en het daaruit voortkomende risico van een infectie van landbouwhuisdieren nog verder te minimaliseren, heeft de COGEM geadviseerd de laboratoriummedewerkers voor te schrijven om tot 3 dagen na het werken met gg-VSIV-ZEBOV geen contact hebben met varkens, grote en kleine herkauwers en paarden.

Met dit aanvullende voorschrift heeft de COGEM aan willen sluiten bij een in de praktijk gehanteerde maatregel die in 1985 door de ‘Europese Commissie voor de bestrijding van mond-enklauwzeer’ is vastgelegd in het document: ‘*Minimum standards for laboratories working with FMDV in Vitro and in Vivo.*’⁶ Deze maatregel stelt dat: *Persons, including visitors, authorised to enter the FMDV restricted area must agree not to keep any animals which are susceptible to FMD, nor reside on premises where such animals are kept and to abide by minimum standards of quarantine, i.e. no contact with animals susceptible to Foot-and-Mouth Disease for at least three days.*

De COGEM merkt op dat deze maatregel in het bedrijfsleven en bij onderzoeksinstellingen ook bij werkzaamheden met andere dierpathogenen gehanteerd wordt.

Als het voor de vergunningverlening niet mogelijk is om aan te sluiten bij maatregelen die in het werkveld staande praktijk zijn bij werkzaamheden met MKZ en ook bij werkzaamheden met andere dierpathogene virussen algemeen toegepast worden, dan kunnen er ook alternatieve maatregelen worden gehanteerd. Hierbij kan gedacht worden aan het verplicht douchen na afloop van de werkzaamheden en wisseling van kleding en schoenen bij het verlaten van de ruimte.

Herziening van advies uit 2012

Zoals reeds aangegeven bij de bovengenoemde vragen van Bureau ggo heeft de COGEM in 2012 geadviseerd om de labwerkzaamheden van een andere instelling met eenzelfde gg-VISV op ML-III in te schalen.¹ Gezien de sindsdien opgedane wetenschappelijke kennis is de COGEM van mening dat analoog aan bovenstaande overweging deze werkzaamheden ook omlaaggeschaald kunnen worden. Zij adviseert derhalve om deze werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau in te schalen en daarbij onderstaande voorschriften te hanteren:

- open handelingen worden uitgevoerd in een VK-II kabinet,
- tijdens de werkzaamheden worden handschoenen gedragen,

- laboratoriummedewerkers mogen geen contact hebben met varkens, grote en kleine herkauwers en paarden tot 3 dagen na het werken met gg-VSIV-ZEBOV

Hierbij kan het laatste voorschrift eventueel vervangen worden door:

- bij het verlaten van de ruimte is een kleding- en schoeiselwissel verplicht,
- na afloop van de werkzaamheden dient de laboratoriummedewerker zich te douchen

Signalering: Controleerbaarheid en handhaafbaarheid

Bureau GGO stelt dat de door COGEM geadviseerde aanvullende maatregel waarbij laboratoriummedewerkers geen contact mogen hebben met varkens, grote en kleine herkauwers en paarden tot 3 dagen na het werken met gg-VSIV-ZEBOV, moeilijk controleerbaar en handhaafbaar is.

Zoals al eerder opgemerkt, wijst de COGEM erop dat betreffend voorschrift door de Europese Commissie is vastgelegd in een Europese Richtlijn met betrekking tot de werkzaamheden met MKZV. Tevens blijkt deze maatregel in het bedrijfsleven voor werkzaamheden met verschillende dierpathogenen staande praktijk. In dit opzicht lijkt het betreffende voorschrift een alom geaccepteerde en gewaardeerde methode om eventuele risico's van dierpathogenen te beperken.

Controle van vergunninghouders op het veilig werken met ggo's en het naleven van door de ggo regelgeving opgelegde voorschriften wordt uitgevoerd door de Inspectie Leefomgeving en Transport (ILT) en de biologischeveiligheidsfunctionaris (BVF). Hierbij houdt ILT toezicht op hoofdlijnen en voert zij steekproefsgewijs gedetailleerde controles uit.⁷ De bezoekfrequentie door ILT hangt af van het risico, het naleefgedrag en de complexiteit en varieert van minimaal eens per vier jaar tot meerdere keren per jaar. Gezien de beperkte capaciteit van ILT en het aantal ggo-vergunninghouders in Nederland (ongeveer 225) is het onmogelijk om te controleren of alle werkvoorschriften en eventuele aanvullende voorschriften worden nageleefd.

In de praktijk voert de BVF regelmatig interne controles uit, maar ook voor de BVF is het niet mogelijk om voortdurend toe te zien op de naleving van de voorgeschreven maatregelen. Dit betekent dat de verantwoordelijkheid voor het veilig werken met ggo's grotendeels bij de vergunninghouder ligt en neerkomt op de intergriteit en de beroepsethiek van de onderzoekers zelf. Uit het jaarverslag 2013 van ILT blijkt dat de naleving van de regelgeving onder vergunninghouders met een ingeperkt gebruik en introductie in het milieu vergunningen zeer hoog is.⁸ Hieruit blijkt dat onderzoekers zich bewust zijn van deze verantwoordelijkheid en dienovereenkomstig handelen.

De huidige praktijk van inspectie en controle van werkzaamheden met ggo's in ogenschouw nemende, wijst de COGEM erop dat de verantwoordelijkheid voor het naleven van genoemd voorschrift niet anders is dan voor aanvullende voorschriften die binnen de grenzen van het laboratorium getroffen moeten worden. Daarbij is de bereidheid van de medewerker zich te conformeren aan een maatregel veel belangrijker dan de mate van controleerbaarheid en handhaafbaarheid.

Referenties

1. COGEM (2012). Inschaling van onderzoek naar Ebolavirus en Marburgvirus infecties met genetisch gemodificeerd VSIV. COGEM advies CGM/120417-02
2. Roberts A *et al.* (1998). Vaccination with a Recombinant Vesicular Stomatitis Virus Expressing an Influenza Virus Hemagglutinin Provides Complete Protection from Influenza Virus Challenge. *J. Virol.* 72: 4704–4711.
3. Jones SM. (2005). Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat. Med.* 11: 786-790
4. Geisbert TW *et al.* (2009). Single-Injection Vaccine Protects Nonhuman Primates against Infection with Marburg Virus and Three Species of Ebola Virus. *J. Virol.* 83: 7296–7304
5. Gunther S *et al.* (2011). Management of accidental exposure to Ebola virus in the biosafety level 4 laboratory, Hamburg, Germany. *J. Infect. Dis.* 3: S785-790
6. Minimum standards for laboratories working with FMDV in Vitro and in Vivo. Standard adopted by the 38th General Session of the European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease (EuFMD), 30th April 2009
7. Inspectie Leefomgeving en Transport. Risicovolle bedrijven en activiteiten. Toezicht en Vergunninghouders. <http://bit.ly/20B0XN9> (bezoekt: 13 april 2016)
8. Inspectie Leefomgeving en Transport. (2013). Jaarverslag 2013. https://www.ilent.nl/Images/Jaarverslag_2013_tcm334-354570.pdf (bezoekt: 15 april 2016)