

Aan de staatssecretaris van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
De heer drs. P.L.B.A. van Geel
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

DATUM 26 september 2006
KENMERK CGM/060926-01
ONDERWERP Advies grootschalige productie van een influenzavaccin (IG 06-062)

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van een adviesvraag over de grootschalige productie van een influenzavaccin van Solvay Pharmaceuticals te Weesp, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de risico's bij de grootschalige productie van een genetisch gemodificeerd influenzavaccin. De aanvrager is voornemens om met behulp van 'Madin Darby Canine Kidney' (MDCK) cellen een vaccin te produceren tegen influenza A virussen. De productiewerkzaamheden wijken op enkele punten af van experimenten waarover de COGEM reeds geadviseerd heeft. Bureau GGO heeft over deze afwijkende aspecten vragen gesteld.

De eerste vraag betreft het uitvoeren van open in plaats van gesloten handelingen en de hierbij te nemen aanvullende voorschriften. De COGEM acht de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein wanneer de handelingen worden uitgevoerd in een klasse-II veiligheidskabinet. Medewerkers dienen handschoenen te dragen en dienen tevens gevaccineerd te zijn. Het dragen van een bril, mond- en neuskapje is onder deze omstandigheden niet noodzakelijk vanwege de inperking van het kabinet.

De volgende vraag heeft betrekking op het volume van de batch, namelijk 5000 liter in plaats van 3000 liter. De COGEM is van mening dat dit geen consequenties heeft voor de eerder opgestelde risicobeoordeling omdat de volumeverandering relatief beperkt is.

Als laatste is de COGEM gevraagd de inactivatiemethode te beoordelen. De aanvrager wil de genetisch gemodificeerde organismen inactiveren met formaldehyde in plaats van beta-propiolacton. Om de inactivatiemethode te valideren is een kleinschalige studie uitgevoerd. De inactivatie-omstandigheden in deze studie wijken echter af van de uiteindelijke omstandigheden bij de grootschalige productie. Er wordt onder meer gebruik gemaakt van verschillende matrices en daarnaast wordt een influenza B virus in plaats van een influenza A virus gebruikt. Daarom is de COGEM van mening dat het op grond van de aangeleverde gegevens niet mogelijk is om te beoordelen of de inactivatiemethode effectief is.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'Z' followed by a horizontal line that ends in a small upward curve.

Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. I. van der Leij

Grootschalige productie van een influenza A vaccin in cellen

COGEM advies CGM/060926-01

De COGEM is gevraagd te adviseren over de risico's bij de grootschalige productie van een genetisch gemodificeerd (gg-) influenzavaccin. De aanvrager is voornemens om met behulp van 'Madin Darby Canine Kidney' (MDCK) cellen een vaccin te produceren tegen influenzavirustype H5N1. Het voor de productie gehanteerde genetisch gemodificeerde organisme (ggo) is gebaseerd op de niet-pathogene Influenza A virusstam A/PuertoRico/8/34 (H1N1). Hieraan zijn twee gensegmenten toegevoegd coderend voor hemagglutinine en neuraminidase, afkomstig uit H5N1 influenzavirussen. Beide segmenten zijn volledig gekarakteriseerd en het segment dat codeert voor hemagglutinine mist de polybasische klievingsplaats. Aanwezigheid van deze klievingsplaats blijkt een belangrijke aanwijzing te zijn voor de pathogeniteit van het virus. De vervaardiging van het ggo maakt geen deel uit van de vergunningaanvraag.

Om het vaccinvirus grootschalig te produceren, worden MDCK cellen, welke zich bevinden in bioreactoren, geïnfecteerd met het ggo. Hiertoe wordt in een klasse-II veiligheidskabinet een ampul met het ggo (de zaaivirussuspensie) overgebracht naar een zogenaamd drukvaatje. Via dit vaatje wordt het zaaivirus in de bioreactor gebracht. Na vermenigvuldiging van het virus, vindt opzuivering en inactivatie van de ggo's met behulp van formaldehyde plaats.

De COGEM heeft reeds eerder geadviseerd over vergelijkbare werkzaamheden (CGM/060228-02 en CGM/060714-01) in het kader van andere vergunningaanvragen (1;2). De COGEM was destijds van mening dat de inrichtingsvoorschriften van een productieruimte op MI-III inperkingsniveau, alsmede de aanvullende voorschriften zoals gesteld door Bureau GGO, voldoende fysieke inperking geven om de veiligheid voor mens en milieu te waarborgen.

Op drie punten wijken de handelingen af van de eerder beoordeelde werkzaamheden. Bureau GGO heeft de COGEM hierover vragen gesteld.

1. *In de onderhavige aanvraag is sprake van het uitvoeren van open in plaats van gesloten handelingen in een klasse-II veiligheidskabinet in een MI-III ruimte.*

De handelingen hebben betrekking op het openen van een ampul met zaaivirus en het overbrengen van dit virus in een drukvaatje.

Voor de uitvoering van deze open handelingen heeft Bureau GGO in de ontwerpbeschikking aanvullende voorschriften opgenomen. Het betreft:

- het uitvoeren van open handelingen in een klasse II veiligheidskabinet;
- het dragen van een mond- en neuskapje (N-95 of een hogere specificatie) en een beschermende bril;
- het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden.

De COGEM acht het dragen van handschoenen en het uitvoeren van open handelingen in een klasse II veiligheidskabinet noodzakelijk om de kans op verspreiding van de gehanteerde ggo's te minimaliseren. Aangezien een dergelijk veiligheidskabinet voldoende inperking biedt, is de COGEM van mening dat het dragen van een mond- en neuskapje geen additionele bescherming biedt. Wel is de COGEM van mening dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn. Vaccinatie voorkomt dat medewerkers drager zijn van wildtype influenzavirussen. Als een medewerker niet gevaccineerd is én drager is van een wildtype influenzavirus, kan dit tot risico's leiden wanneer hij/zij onverhoopt in contact komt met het vaccinvirus. Mogelijkerwijs zou dit kunnen leiden tot de uitwisseling van genoomsegmenten (reassortment) tussen beide virussen. De kans is niet geheel uitgesloten dat een pathogeen virus gevormd wordt. De COGEM adviseert daarom om medewerkers te vaccineren tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen. Indien medewerkers niet gevaccineerd zijn, adviseert de COGEM het dragen van een mond- en neuskapje tijdens de werkzaamheden. Zij geeft echter de voorkeur aan vaccinatie omdat dit ook bescherming biedt bij de andere werkzaamheden met influenzavirussen.

Overigens merkt de COGEM op dat vaccinatie geen volledige bescherming biedt. Een griepvaccin is namelijk samengesteld uit HA en NA van influenza A en B stammen waarvan op basis van wereldwijde surveillancegegevens wordt verwacht dat ze zullen gaan circuleren in het betreffende seizoen. Het blijkt dat het vaccin 70-90% bescherming biedt (bij gezonde, immunocompetente mensen jonger dan 65 jaar) wanneer de vaccinstammen goed overeenkomen met de circulerende stammen (3). Indien een ander virus circuleert dan waarop het vaccin gebaseerd is, is niet geheel uit te sluiten dat een gevaccineerd persoon toch een influenzavirus bij zich draagt. Echter, vaccinatie verkleint de kans dat de medewerker drager is van een wildtype influenzavirus. Daarnaast acht de COGEM de kans dat een medewerker besmet raakt met het, overigens sterk verzwakte, vaccinvirus zeer klein vanwege de inperking van het klasse-II veiligheidskabinet. De combinatie van deze twee factoren verlaagt de kans op reassortment sterk. Verder wijst de COGEM op het aanvullende voorschrift dat betrekking heeft op alle werkzaamheden met influenzavirussen, namelijk dat medewerkers met griepverschijnselen worden

uitgesloten van de werkzaamheden. Gezien dit alles is de COGEM van mening dat het optreden van een onbedoelde infectie en de risico's als gevolg hiervan in dit geval verwaarloosbaar klein zijn.

Gezien de inperking van een klasse-II veiligheidskabinet én vanwege de verwaarloosbaar kleine kans dat het sterk verzwakte vaccinvirus oogontstekingen veroorzaakt, is de COGEM van mening dat een bril geen additionele bescherming biedt. Zij acht het dragen van een bril wel noodzakelijk bij werkzaamheden met virussen die oogontstekingen veroorzaken, zoals H7N7.

Het hierboven weergegeven standpunt wijkt op een aantal aspecten af van eerdere COGEM adviezen welke tot stand gekomen waren naar aanleiding van vergunningaanvragen over verschillende influenzavirus subtypes. Gezien de vele adviesvragen waarin onder meer de aanvullende voorschriften aan de orde zijn geweest, heeft de COGEM besloten om dit onderwerp nader te behandelen. Na evaluatie van de relevante informatie is de COGEM tot de conclusie gekomen dat het mogelijk is om de voorschriften te vereenvoudigen zonder dat de veiligheid voor mens en milieu in het geding komt. In verband hiermee zal de COGEM in de nabije toekomst een algemeen advies uitbrengen. Vooruitlopend hierop heeft de COGEM de nieuwe standpunten al in dit specifieke advies verwerkt.

2. De aanvrager wil het gg-influenzavirus chemisch inactiveren met behulp van een formaldehyde oplossing in plaats van met beta propiolacton (BPL).

De aanvrager geeft aan dat na inactivatie geen levend influenzavirus aanwezig mag zijn en dat de 'overkill' capaciteit groter moet zijn dan een factor 1000. Om dit te testen heeft de aanvrager een inactivatiestudie uitgevoerd.

De COGEM heeft de studie beoordeeld en is tot de conclusie gekomen dat het op grond van de gepresenteerde gegevens niet mogelijk is om te beoordelen of de inactivatiemethode in het voorliggende geval effectief is. Voor de studie is namelijk gebruik gemaakt van een influenza B virus in tegenstelling tot het influenza A virus dat grootschalig geproduceerd zal worden. Voor zover bij de COGEM bekend, zijn er verschillen in stabiliteit tussen influenza A en B virussen. Zij acht het niet uitgesloten dat een influenza B virus minder stabiel is en dus eerder geïnactiveerd zal zijn dan een influenza A virus.

Verder hanteert de aanvrager verschillende matrices om de inactivatie te testen. Het influenza B virus is opgekweekt in eivocht dat een hoge concentratie eiwitten bevat. Hoewel aannemelijk is dat inactivatie van het influenza B virus daarom minder effectief

is dan wanneer kweek plaatsvindt in cellen, is de COGEM van mening dat gelijke matrices gehanteerd moeten worden om een adequate inschatting te kunnen maken van de effectiviteit van de inactivatiemethode.

3. *De aanvrager is voornemens om handelingen te verrichten in een 5000 liter in plaats van 3000 liter.*

De COGEM is van mening dat een enigszins groter volume geen invloed heeft op de eerder uitgevoerde risicoanalyse. Een verdubbeling van het volume is een relatief beperkte toename. Bij het kweken van influenzavirus op MDCK cellen kunnen concentraties bereikt worden van 1×10^7 tot 1×10^8 virusdeeltjes/ml. Uitgaande van de hoogste concentraties betekent dit dat in een bioreactor van 5000 liter 5×10^{14} virusdeeltjes worden geproduceerd. Ter vergelijking, in een bioreactor van 3000 liter worden ongeveer 3×10^{14} virusdeeltjes geproduceerd. Aangezien het gebruik van een 5000 liter bioreactor leidt tot een geringe toename van virusdeeltjes met een factor 2, acht de COGEM dit van geen belang voor de risicobeoordeling, mede omdat het productiesysteem volledig gesloten is. De door de aanvrager getroffen beschermingsmaatregelen en aanvullende voorschriften voldoen bij een volume van 5000 liter. De COGEM wijst er op dat bij productie onder MI-III omstandigheden de mogelijkheid aanwezig moet zijn om 5000 liter op te vangen en te desinfecteren indien deze onverhoopt vanwege bijvoorbeeld een lekkage zou vrijkomen.

Conclusie

Concluderend is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn wanneer open handelingen worden uitgevoerd in een klasse-II veiligheidskabinet. Hierbij acht zij het dragen van handschoenen noodzakelijk. Het dragen van een bril, mond- en neuskapje biedt in dit geval geen additionele bescherming bij het uitvoeren van werkzaamheden in een dergelijk veiligheidskabinet. Verder is de COGEM van mening dat het batchvolume geen invloed heeft op de eerder uitgevoerde risicobeoordeling. Zij kan echter geen uitspraak doen over de inactivatiemethode met behulp van formaldehyde aangezien de aangeleverde gegevens geen uitsluitel geven over de effectiviteit van de inactivatie.

Referenties

1. COGEM (2006). Grootschalige productie van influenzavaccins (CGM/060228-02).
2. COGEM (2006). IG 06-048 (CGM060714-01).
3. Landelijke Coördinatiestructuur Infectieziektebestrijding (2003). Internet: http://www.infectieziekten.info/bestanden/protocollen/Influenza_J10-11_protocol_03.pdf (19/09/2006).