

Consistente advisering over chimere virussen: hoe de kwaliteit te borgen?

Advies over Chimeer Virus

Omschrijving chimeer virus:

- Beschrijving uitgangsvirus(sen)
- Beschrijving donorgenen

Onderbouwing van inschaling:

- Tropisme van chimeer virus
- Pathogeniteit van chimeer virus
- Verspreiding van chimeer virus

Conclusie:

- Beschrijving inperkingsniveau
- Inschaling volgt logisch uit onderbouwing
- Beschrijving aanvullende voorschriften
- Aanvullende voorschriften volgen logisch uit onderbouwing

CGM 2016-03
ONDERZOEKSRAPPORT

Consistente advisering over chimere virussen: hoe de kwaliteit te borgen?

COGEM onderzoeksrapport: CGM 2016-03

Cover:

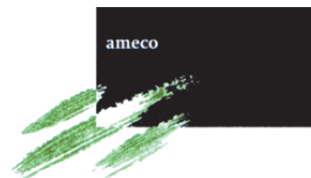
Picture: Bart Erkamp

Design: Avant la Lettre, Utrecht

Disclaimer:

This report was commissioned by COGEM. The content of this publication is the sole responsibility of the author and does not necessarily reflect the views of COGEM.

Dit rapport is in opdracht van de Commissie Genetische Modificatie (COGEM) samengesteld. De mening die in het rapport wordt weergegeven, is die van de auteur en weerspiegelt niet noodzakelijkerwijs de mening van de COGEM.



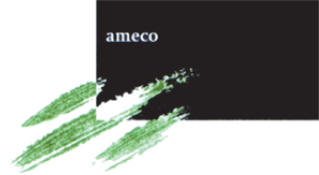
Voorwoord

De COGEM adviseert over het veilig werken met genetisch gemodificeerde organismen. Een bijzonder onderdeel van de werkzaamheden van de COGEM betreft de advisering over chimere virussen. Immers, bij chimere virussen kunnen door de combinatie en interactie van genetische elementen van twee of meer virussen veranderingen optreden in de eigenschappen van dergelijke virussen. De wetenschappelijke inzichten waarop de COGEM zich baseert bij de advisering over de biologische eigenschappen van deze virussen veranderen in een snel tempo.

Tegen deze achtergrond is het van belang dat de COGEM de hoge kwaliteit van haar werkzaamheden borgt en op een transparante en consistente wijze adviseert aan de gebruikers van haar adviezen. Daarom heeft de COGEM aan een externe partij, Ameco, gevraagd een onderzoek uit te voeren naar de advisering over chimere virussen in de afgelopen 10 jaar teneinde mogelijke inconsistenties in beeld te brengen en de werkwijze van de COGEM verder te verbeteren. Gezien de complexiteit van genoemde adviezen heeft Ameco dr. H. Bergmans, een oud medewerker van het Bureau GGO en met een gedegen kennis van de materie, in het onderzoeksteam opgenomen.

In dit rapport evalueert Ameco de consistentie van de adviezen die de COGEM in de periode 2004 -2014 heeft uitgebracht. Wij willen daarbij aantekenen dat consistentie geen eenvoudig begrip is. In het onderzoek is onderscheid gemaakt tussen “interne” consistentie binnen adviezen en “externe” consistentie tussen adviezen. Bij de check op interne consistentie stonden de volgende vragen centraal: worden alle relevante aspecten en overwegingen van de risicobeoordeling genoemd?, is de opbouw van het advies consistent?, volgen de conclusies logischerwijs uit de bevindingen? Bij de check op “externe” consistentie waren de vragen: is er een vast protocol gebruikt voor verschillende adviezen? en heeft er in de loop der tijd een verschuiving plaatsgevonden in de elementen die bij de overwegingen een rol spelen? Tegen deze achtergrond is het haast onvermijdelijk dat er een zeker subjectief element een rol gaat spelen bij de beoordeling van de consistentie van de werkzaamheden van de COGEM. Toch zijn, naar het oordeel van de Begeleidingscommissie, de onderzoekers van Ameco er in geslaagd om een methode te vinden waarmee de werkzaamheden van de COGEM op een zo veel mogelijk objectieve en kwantitatieve wijze geëvalueerd konden worden.

De auteurs schetsen een beeld dat de adviezen van de COGEM gedurende de onderzoeksperiode over het algemeen consistent zijn, ook al zijn gedurende deze periode de wetenschappelijke inzichten veranderd. Inconsistenties die werden aangetroffen waren meestal het gevolg van de verhalende stijl van de adviezen, vonden plaats op *ad hoc* basis, en hadden vaak betrekking op de aanvullende



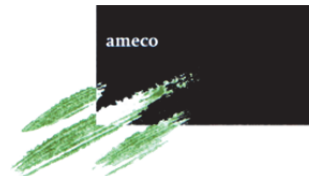
voorschriften. De auteurs geven enkele concrete aanknopingspunten om de werkwijze van de COGEM verder te verbeteren.

Tot slot een enkel woord over de rol van de Begeleidingscommissie zelf. De Begeleidingscommissie heeft op een plezierige wijze samengewerkt met de auteurs en getracht constructief mee te denken en te adviseren, met name om de consistentiecheck zoveel mogelijk objectiveerbaar en ook voor derden navolgbaar te maken. Als leden van de COGEM zijn we ons daarbij echter bewust geweest van enkele mogelijke gevaren. Ten eerste, dat wij niet in een verdedigende reflex zouden moeten schieten bij kritiek op de COGEM. Ten tweede, dat wij de houding van “de slager die zijn eigen vlees keurt” moesten zien te vermijden. De Begeleidingscommissie heeft door een terughoudende opstelling deze gevaren proberen te omzeilen. De verantwoordelijkheid voor de bevindingen en conclusies van dit onderzoek berust dan ook bij de auteurs.

Namens de Begeleidingscommissie beveel ik dit rapport in uw aandacht aan.

Tjeerd G. Kimman

Voorzitter Begeleidingscommissie



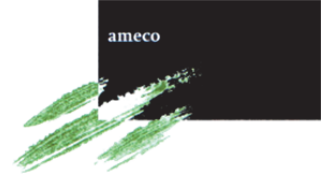
Colofon	
Titel	Consistente advisering over chimere virussen: hoe de kwaliteit te borgen?
Uitvoerende organisatie:	<p>Ameco Koningslaan 60 3583 GN Utrecht The Netherlands Tel. +31 (0)30-2545840 info@ameco-ut.nl www.ameco-ut.nl</p> <p>Contact persoon: H.A.W. Kleinjans, r.kleinjans@ameco-ut.nl</p>
Auteurs:	<p>Dr. J.E.N. Bergmans M. Meulenstein MSc. drs. H.A.W. Kleinjans</p>
Opdrachtgever:	<p>Commissie Genetische Modificatie (COGEM) Postbus 578 3720 AN Bilthoven The Netherlands Tel. +31 (0)30-2742777 info@cogem.net http://www.cogem.net</p> <p>Contact persoon: F. H. E. Schagen, erik.schagen@cogem.net</p>
Begeleidingscommissie:	<p>Dr. T. G. Kimman (Voorzitter) Dr. B. P. H. Peeters Dr. K. C. Wolthers Dr. F. H. E. Schagen</p>
Opmerking:	<p>Dit rapport is gemaakt in opdracht van de COGEM. De inhoud van de publicatie is uitsluitend de verantwoordelijkheid van de auteurs en vertegenwoordigt niet vanzelfsprekend de mening van de COGEM.</p>
Datum:	Mei 2015



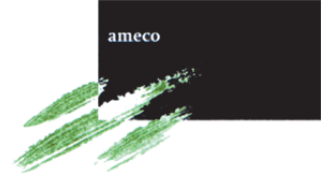


Inhoud

Voorwoord	1
Colofon	3
Inhoud	5
Gebruikte afkortingen	7
Deel 1 Consistentiecheck van de advisering over chimere virussen 2004-2014	9
Samenvatting	10
Executive Summary	14
1 Inleiding	21
1.1 Doel van het onderzoek	21
2 Chimere virussen en milieurisicoanalyse	22
2.1 Chimere virussen	22
2.2 Milieurisicoanalyse	22
Risicoanalyse van chimere virussen	24
3 Consistentiecheck chimere virussen	27
3.1 Inleiding	27
Consistentie	27
Belang van consistentie voor aanvragers	29
3.2 Aanpak van de consistentiecheck	29
Criteria bij de consistentiecheck	30
Analyse van de consistentiecheck	31
4 Bevindingen	32
4.1 Opbouw van de adviezen	32
4.2 Consistentie binnen de adviezen	33
4.2.1 Bevindingen 'Beschrijving van het ggo'	39
4.2.2 Bevindingen 'Onderbouwing'	40
4.2.3 Bevindingen 'Conclusies'	41
4.3 Consistentie tussen adviezen	43
5 Conclusies en aanbevelingen	47
5.1 Conclusies	47
5.2 Aanbevelingen	48
Referenties	52



Deel 2 Overzicht van de COGEM adviezen over chimere virussen in de verslagperiode	53
Algemeen advies ten aanzien van chimere virussen	56
Adenovirussen	56
Alphavirussen	59
Bunyaviridae.....	61
Canine parvovirus.....	62
<i>Classical swine fever virus (CSFV) en Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)</i>	62
Coronavirussen.....	64
Flavivirussen	65
<i>Hepatitis delta virus (HDV)</i>	68
Herpes Virussen.....	69
Humaan Metapneumovirus (hMPV).....	71
<i>Humaan Parechovirus (HpeV types 1 - 5)</i>	72
<i>Influenza A virus</i>	73
<i>Influenza B virus</i>	86
Lentivirussen.....	87
Lyssavirussen	87
<i>Measles virus</i>	88
<i>Mond- en Klauwzeer Virus (MKZV)</i>	90
Orbivirussen	90
Paramyxovirussen	91
<i>Phlebovirus</i>	92
Vacciniavirussen, MVA.....	93
Vacciniavirussen, NYVAC	96
<i>Vesicular stomatitis virus</i>	97
Appendix A.....	101
Appendix B.....	123



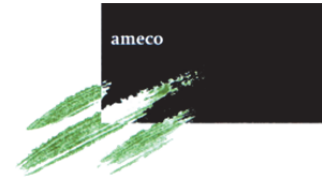
Gebruikte afkortingen

AHSV	<i>Afrikaanse paardenpestvirus</i>
APMV	<i>Avian paramyxovirus</i>
APV	<i>Avian pneumovirus</i>
BDV	<i>Border disease virus</i>
BMR	bof, mazelen en rode hond
BVDV	<i>Bovine viral diarrhoea virus</i>
CCHFV	<i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus</i>
cDNA	kopie DNA
CFA	<i>Cell fusing agent virus</i>
CPV	Canine parvovirus
CSFV	<i>Classical swine fever virus</i>
COGEM	Commissie Genetische Modificatie
DENV	<i>Denguevirus</i>
DM	dierverslijf waarin micro-organismen worden toegepast (als afkorting gebruikt in de Regeling; daar niet volledig uitgeschreven; zie Appendix A)
DNA	desoxyribonucleïnezuur
DUVV	<i>Duvenhage virus</i>
EEV	<i>Equine encephalose Virus</i>
EHDV	<i>Enzootische haemorrhagische ziekte virus</i>
ERA	environmental risk assessment
FHV	<i>Feline herpes virus</i>
FIV	<i>Feline immunodeficiency virus</i>
FLUBV	<i>Influenza B virus</i>
gg	genetisch gemodificeerd
ggo	genetisch gemodificeerd organisme
gm	genetically modified
GMO	genetically modified organism
HA	haemagglutinine
HAdV-5	humaan adenovirus serotype 5
HBV	<i>Hepatitis B virus</i>
HCoV	humaan coronavirus
HDV	<i>Hepatitis delta virus</i>
HEPA	High efficiency particulate arrestance
HIV	Human Immuno-deficiency virus
hMPV	<i>humaan Metapneumovirus</i>
HpeV	<i>humaan Parechovirus</i>
HPV	<i>humaan Papillomavirus</i>
HRSV	<i>Human respiratory syncytial virus</i>
HVT	herpesvirus of turkey
IBV	<i>Infectious bronchitisvirus</i>
IBDV	<i>Infectious bursal disease virus</i>
IM	Doelbewuste introductie in het milieu
LAF	laminar airflow
MeHV	<i>Meleagrid herpesvirus</i>
MI	Ruimte voor grootschalige productie van micro-organismen (als afkorting gebruikt in de Regeling; daar niet volledig uitgeschreven; zie Appendix A)
MKZ	Mond- en Klauwzeer Virus

ML	Microbiologisch Laboratorium (gebruikt in de Regeling; daar niet volledig uitgeschreven; zie Appendix A)
MOKV	<i>Mokola virus</i>
MVA	Modified Vaccinia Virus Ankara
NA	neuraminidase
NDV	<i>Newcastle disease virus</i>
NYVAC	New York Vaccinia
ORF	open reading frame
Pip	pseudo infectious partikel
PIV	<i>Parainfluenzavirus</i>
PPRV	<i>Pestes-des-petits-ruminants virus</i>
RABV	<i>Rabies virus</i>
RCA	replicatiecompetent Adenovirus
RCV	replicatiecompetent virus
RCVV	replication competent viral vector
RNA	ribonucleïnezuur
RSV	<i>Respiratory syncytial virus</i>
RVFV	<i>Rift Valley fever virus</i>
SBV	Schmallenbergvirus
SFV	<i>Semliki forest virus</i>
SINV	<i>Sindbis virus</i>
TOV	<i>Toggenburgvirus</i>
VEEV	<i>Venezuelan equine encephalitis virus</i>
VK	veiligheidskabinet
VSV	<i>Vesicular stomatitis virus</i>
YFV	<i>Yellow fever virus</i>
WNV	<i>West Nile virus</i>
YokV	<i>Yokose virus</i>

DEEL 1

Consistentiecheck van de advisering over chimere
virussen 2004-2014



Samenvatting

Een zwaartepunt in de werkzaamheden van de GOGEM is advisering over adviesvragen met betrekking tot inperkingsvoorschriften voor het veilig werken met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's), waaronder gg virussen. De complexiteit van deze adviesvragen is in het laatste decennium voortdurend toegenomen, waarbij de veiligheidsbeoordeling van chimere virussen een aparte plaats inneemt.

De term chimeer virus wordt in dit rapport gebruikt voor een recombinant virus waarvan het genoom bestaat uit de combinatie van (een gedeelte van) de genomen van twee of meer virussen, waarbij biologische karakteristieken van beide oudervirussen tot uiting kunnen komen. Omdat in chimere virussen genen afkomstig van verschillende virussen of virusstammen worden gecombineerd, kunnen interacties plaatsvinden tussen de genproducten van deze virale genen, die van invloed kunnen zijn op de eigenschappen van het gg virus. De COGEM adviseert over de daaruit voortvloeiende veiligheidsrisico's op basis van een wetenschappelijke risicoanalyse.

Mede doordat wetenschappelijke inzichten continu veranderen, is het mogelijk dat bij de advisering over (chimere) virussen in de loop der jaren een verschuiving is opgetreden in de elementen die een rol spelen bij de beoordeling door de COGEM. Daarbij kunnen er inconsistenties optreden in de advisering. In dit onderzoek is daarom de consistentie van de adviezen door de COGEM over chimere virussen tussen 2004-2014 geanalyseerd.

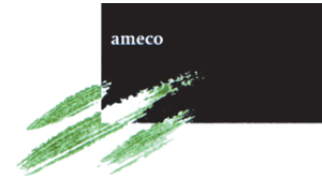
In het onderzoek zijn die adviezen meegenomen waarin de term 'chimeer virus' wordt gebruikt. Daarnaast zijn ook alle adviezen meegenomen waarin virussen worden behandeld die op grond van de gestelde criteria als chimeer moeten worden beschouwd. Er zijn in totaal 57 adviezen bij de beoordeling betrokken.

Het rapport is opgebouwd uit twee delen. In deel 1 wordt de aanpak van het onderzoek beschreven en worden de bevindingen en conclusies gegeven. Deel 2 geeft een gedetailleerde beschrijving van de bevindingen per advies. Deel 2 geeft daarmee achtergrondinformatie voor de resultaten die in deel 1 beschreven worden.

Consistentiecheck

In dit onderzoek is op twee manieren naar consistentie gekeken: naar consistentie *binnen* een advies (i.e., de vraag of alle relevante aspecten en overwegingen van de risicobeoordeling worden genoemd en of de conclusie consistent volgt uit deze overwegingen) en naar consistentie *tussen* verschillende adviezen binnen eenzelfde virusgroep.

Bij de analyse van de consistentie binnen de adviezen zijn de volgende punten in beschouwing genomen:



1. Beschrijving: worden de oudervirussen beschreven, kan uit de beschrijving van het ggo worden opgemaakt of het gaat om een chimeer virus en wat zijn de specifieke eigenschappen van het chimere virus die van belang zijn voor de beoordeling?
2. Onderbouwing: Welke aspecten van het uitgangsvirus en van de donorsequenties worden meegewogen in de redematies die tot de conclusie van het advies leiden. Is de onderbouwing consistent binnen het advies en tussen de adviezen?
3. Conclusie: wordt er een duidelijke conclusie getrokken over de inschaling van de werkzaamheden en over eventuele vereiste aanvullende voorschriften (voor introductie in het milieu: over de milieuviligheid van de werkzaamheden en over eventueel te nemen veiligheidsmaatregelen) en is deze conclusie consistent binnen het advies?

Tabel 2 geeft de resultaten van deze consistentiecheck weer. De criteria die gehanteerd zijn staan vermeld in de kop van de tabel: de beschrijving van het ggo, in termen van de uitgangsvirussen en de functie van de donorgenen, de onderbouwing van de conclusies, ten aanzien van het tropisme, de pathogeniteit en de verspreiding van het ggo, en de conclusies: het advies over de benodigde fysische inperking en de beschrijving van de aanvullende voorschriften.

De scoring kent drie klassen: '+' het betreffende aspect is volledig beschreven, '+/-': er wordt een beschrijving gegeven, maar essentiële informatie ontbreekt of er zijn opmerkingen bij, '-': beschrijving ontbreekt. Een score van > 80% + wordt gezien als 'goed', een + score van 50% of lager als 'onvoldoende' en tussen 50% en 80% + als 'voldoende'.

De beschrijving van het ggo scoort in vrijwel alle gevallen 'goed', maar de beschrijving van de functies van de donorgenen kan verbeterd worden (73% +). Bij de onderbouwing scoort het aspect pathogeniteit goed (86% +), tropisme en verspreiding scores voldoende (resp. 63% and 74% +). Bij tropisme en verspreiding is de score '-' relatief hoog. Het is echter niet duidelijk of deze '-' scores moeten worden geïnterpreteerd als een ommissie, of dat men van mening was dat de betreffende aspecten niet van belang waren.

De consistentie van de inschaling van de fysische inperking scoort goed. De consistentie van de voorgestelde aanvullende voorschriften is voldoende, maar ook daar is er een betrekkelijk hoge '-' score (22%).

Bij de consistentie tussen de adviezen is gekeken of de punten 1 en 2 tussen de adviezen op overeenkomstige wijze zijn gehanteerd in de analyses, en of de conclusies op overeenkomstige wijze op deze punten zijn gebaseerd.

Een belangrijk aspect van consistentie is of er in de loop van de tijd veranderingen zijn opgetreden in de aanpak van de analyses en conclusies. Dit aspect kon met name goed beoordeeld worden voor de adviezen over influenza A virussen, omdat er over deze virusgroep gedurende de verslagperiode een groot aantal adviezen is uitgebracht.

Conclusies

De belangrijkste conclusies kunnen als volgt worden samengevat:

-
- Bij de consistentiecheck tussen de adviezen zijn geen fundamentele verschuivingen geconstateerd in de in de aanpak van de analyses en conclusies.
 - Wel zijn er punten geconstateerd waarop de adviezen in een aantal gevallen verbeterd kunnen worden:
 - de beschrijving van de donorgenen en hun functies;
 - een consequente vermelding van de overwegingen bij de onderbouwing;
 - een herhaling van de (deel)conclusies die gaandeweg het advies naar voren komen in één volledige eindconclusie;
 - consequente formulering en onderbouwing van de aanvullende voorschriften;
 - onderbouwing van de nuanceringen die soms worden gemaakt bij de herhaling van conclusies uit eerdere adviezen.
 - Het is mogelijk en zelfs waarschijnlijk dat er achterliggende oorzaken of redenen zijn voor de in de vorige bullet geconstateerde punten die voor verbetering in aanmerking komen. Zo kan het achterwege laten van een aspect uit de beschrijving van het ggo, uit de onderbouwing of uit de conclusies van het advies voortkomen uit het feit dat het aspect in het betreffende advies niet van belang werd geacht. Dit wordt echter niet duidelijk uit de tekst van de adviezen.

Aanbevelingen

- Veel van de geconstateerde inconsistenties zouden niet of minder makkelijk optreden als de adviezen zouden worden gecommuniceerd in een strakker format. Het format zou de volgende elementen kunnen bevatten:
 1. De adviesvraag, specifieke aandachtspunten waarnaar wordt gevraagd;
 2. Karakterisering van het ggo;
Verwachte eigenschappen van het ggo, gebaseerd op de karakterisering van de oudervirussen en van de uitgevoerde genetische modificatie;
 3. Beschouwing over de verwachte schadelijke effecten van het ggo;
 4. Resultaten en conclusies van eerdere adviezen, die voor de redeneringen in het betreffende advies relevant zijn;
 5. Voor ingeperkt gebruik: inschaling in overeenstemming met de Regeling genetisch gemodificeerde organismen;
 6. Voor ingeperkt gebruik: - indien van toepassing - argumenten op grond waarvan tot een andere inschaling moet worden gekomen, eventueel noodzakelijke aanvullende voorschriften.
 7. Voor introductie in het milieu: - indien van toepassing - risicobeheersingsmaatregelen die moet worden genomen bij de uitvoering van de handelingen;Indien men hecht aan de verhalende stijl, dan zou overwogen kunnen worden om alleen de conclusies van een advies in een strak format te gieten.
- Informatie die voorkomt in meerdere adviezen en die één zelfde onderwerp betreffen zouden zoveel mogelijk tekstueel identiek moeten zijn. Te denken valt aan de beschrijving van een zelfde virus(groep) of van een zelfde gen of construct dat in verschillende ggo's wordt gebruikt.

-
- Aanvullende voorschriften (bij ingeperkt gebruik) zouden zoveel mogelijk uniform moeten zijn, en uitsluitend aanvullingen moeten bevatten op de voorschriften die in de Regeling worden gegeven. Eventuele ad hoc aanvullingen moeten worden beargumenteerd.
 - In gevallen waarin een adviesvraag meerdere onderdelen heeft, bijvoorbeeld de indeling van een virus(groep) in een pathogeniteitsklasse en daarnaast de inschaling van handelingen met een van dat virus afgeleid gg virus, verdient het aanbeveling om deze vragen geheel los van elkaar te behandelen in verschillende onderdelen van het advies.
 - Het zou behulpzaam zijn voor aanvragers als er één generiek advies komt waarin staat hoe de COGEM om gaat met chimere virussen. Hieruit kan worden afgeleid hoe de beoordeling van chimere virussen in een aanvraag moet worden beschreven en worden onderbouwd.

Executive Summary

This report concerns the consistency of the advices that COGEM, the Netherlands Commission on Genetic Modification, has published on the use of genetically modified (gm) chimeric viruses.

Chimeric viruses are viruses that have a genome consisting of (parts of) the genomes of two or more viruses and that may show biological traits of these parental viruses and their interactions. A chimeric virus may have the following characteristics:

- The genetic information of the virus consists of the (conditionally) functional genome of one virus (the 'acceptor' or 'vector') in combination with at least one functional gene of another virus (the 'donor').
- A donor gene may be added to the genome, or may replace a (homologous) gene of the acceptor.
- Acceptor and donor may belong to different viral species, but may also be different strains of the same viral species.
- The genomes of segmented viruses are regarded as one genetic entity, consequently, reassortants of segmented viruses are regarded as chimeric viruses.

Viruses in which only non-coding sequences have been exchanged are not regarded as chimeric.

As the exchange and the resulting interactions of functional viral genes between viruses may have implications for aspects such as tropism, pathogenicity, and spreading of a chimeric virus, a thorough risk assessment that takes into account the potential interactions of the various viral genes in a chimeric virus is of importance. This risk assessment has to be based on state of the art scientific knowledge regarding the viral functions and their interactions. As this scientific knowledge will be constantly changing and augmenting, the outcome of the risk assessment may also change in time. It is therefore important that the consistency of the risk assessment and of the advices that are based on these risk assessments, is maintained. Consistency between advices implies that similar considerations lead to similar conclusions in different risk assessments, but also that new knowledge leads to changes in these conclusions whenever this is necessary. Moreover, during the last decade the chimeric viruses that are being used in fundamental and applied science have grown more complex.

Taking these considerations into account, COGEM has felt a need for an external audit of the consistency of their advices concerning chimeric viruses over the past 10 years (2004 - 2014). The audit has been performed by Ameco. The results of the audit are presented in this report.

The environmental risk assessment of gm chimeric viruses is performed along the same principles that are used for risk assessments of genetically modified organisms (GMOs) in general. The GMO is characterised as to its genetic material and the phenotypic changes



that may be the result of changes in the genetic material compared to the parental organisms. Adverse environmental effects (including effects on human health as humans in the environment, i.e., not including humans under medical treatment) are taken into consideration that may result from these changes. Concomitantly, the chance that these adverse effects will actually occur under the circumstances of use of the GMO is taken into consideration. These considerations result in an estimation of the environmental risk involved. If the estimated risk is not negligible the use of appropriate risk management strategies to reduce the risk will be considered.

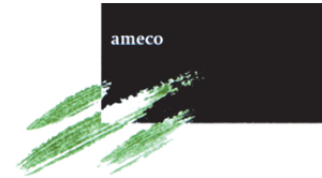
This risk assessment scheme has been laid down in the EU Directive 2001/18/EC on the deliberate release of genetically organisms [1]. In the Netherlands, the risk assessment of contained uses of GMOs, in particular gm micro-organisms including viruses, is based on the same principles, but is more formalised. It takes into account the pathogenicity classes of the acceptor and donor viruses. This approach is sufficient for the straightforward cases of risk assessment, but frequently fails to provide suitable results for the more complicated cases. The cases that are submitted to COGEM for advice usually require a more intricate risk assessment. A schematic overview of the risk assessment that can be applied to gm viruses is presented in Figure 1, page 25.

Consistency checks were performed for all advices that COGEM published within the study period that contain the term 'chimeric' or that deal with viruses that should be considered as chimeric based on their characteristics. A total of 57 advices turned out to be relevant for this report. Each of these is taken into consideration in detail in part 2 of the report, presenting: a short description of the advice; the scientific rationales and discussions presented in the advice; the conclusion, in particular the physical containment and working procedures that should be applied when performing the proposed activities with the gm virus; and comments by the authors of the report in particular regarding the consistency of the advice. The reader may get an impression of the virus groups that have been used as vectors from the listing in the Contents section ('Inhoud') up front.

Consistency has been checked at two levels: consistency *within* each advice (e.g., are all relevant aspects for the risk analysis mentioned and does the conclusion follow the argumentation in a consistent way), and consistency *between* different advices within a group of viruses, taking into account whether criteria are applied and conclusions are drawn accordingly in different advices. Another important aspect is whether the approach to risk analysis has changed over time.

The consistency check within each advice has been based on the following criteria:

1. Description: is a description provided of the parts of the chimeric virus obtained from the acceptor and donor viruses and of their specific characteristics that are relevant for the risk assessment.
2. Argumentation: what arguments are used to reach the conclusion. Which aspects of the acceptor virus and of the donor sequences have been taken into account. Is the argumentation consistent within the advice and between similar advices. In particular, it was checked whether the three major issues in chimeric viruses that



were mentioned before: tropism, pathogenicity and spreading of the chimeric virus, have been taken into account.

3. Conclusion: for contained use; what level of physical containment should be applied when performing activities with the gm virus and what additional safety measures should be taken? For deliberate release; can the activities with the gm virus be performed with negligible risks, and which, if any, safety measures should be taken to achieve negligible risk

The application of these criteria is however not always straightforward, mainly due to the style of the advices. In this 'narrative' style, the advices follow the scheme of the risk assessment but in a somewhat loose fashion. Argumentation appears to follow the line of discussion, but the weight of different arguments is not always clear. Also, when discussion elements such as tropism or dissimination of the GM virus, are not mentioned, it is not clear whether this is an oversight, or the issue has not been considered important.

It is however clear that a 'narrative' style increases the readability of the text.

The analysis of the advices has been performed according to a 'checklist' of criteria. Table 2 presents an overview of the results of this consistency check. The criteria are found in the headings of the table, in subsequent order:

Description of the GMO (*Omschrijving ggo*)

Parent virus(es) are described (*Uitgangsvirus(sen) beschreven*)

Function of the donor gene(s) are described (*Functie donorgen(en) beschreven*)

Argumentation (*Onderbouwing*)

Tropism of the GMO (*Tropisme van het ggo*)

Pathogenicity of the GMO (*Pathogeniteit van het ggo*)

Dissimination of the GMO (*Verspreiding van het ggo*)

Conclusion (*Conclusie*)

Level of fysical containment is set in accordance with argumentation (*Inschaling volgt consistent uit onderbouwing*)

Additional safety measures adequately described (*Aanvullende voorschriften adequaat beschreven*)

Additional safety measures in accordance with argumentation (*Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing*)

Comments (*Opmerking*)

Explanation of the contents of table 2:

+: full description is provided

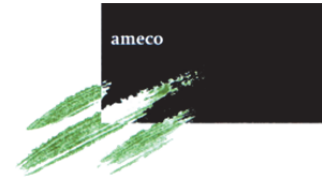
-: no description provided

+/-: description is provided, but essential information is lacking

nvt: not applicable

ea: advice is fully based on a previous advice

The overall scores for +, -and +/-, are given as percentages of the cases that was assigned.



Scores of >80% are considered 'good', between 50 and 80% are considered acceptable, below 50% would be considered unacceptable.

The scores in table 2 are complemented by more extensive descriptions of the advices in Part 2 of this report. The descriptions provide a short overview of each advice, and comments on consistency issues.

The results in table 2 show that the description of the GMO scores as good in nearly all cases, while the description of the functions of the donor genes and their gene products can be improved (73% +). The argumentation provided in the advices has been scored as to how they deal with tropism, pathogenicity and dissemination of the virus. Pathogenicity scores 'good' (86% +), but tropism and dissemination score 'acceptable' (63% and 74%). There is a relatively high percentage of '-' scores; it is not clear whether these '-' scores indicate an oversight, or whether the aspect was deemed not important for the case.

The consistency of the conclusions scores 'good'. The consistency of the additional safety measures that are proposed scores 'acceptable' for their description (72%) and their argumentation (67%, with a relatively high score for '-': 22%). The additional safety measures are frequently provided without argumentation, or they simply refer to conclusions by others about the necessary safety measures.

No indications were found that the approach to risk analysis has changed over time or that criteria and their use has changed. The changes that have been observed appear to be due to new scientific knowledge and experience and these changes are adequately discussed.

Consistency over a longer time period can best be assessed for advices that concern the same virus. Over the reporting period there have been a number of advices about *Influenza A* virus. Here inconsistencies are observed mainly in the formulation of the necessary additional safety measures.

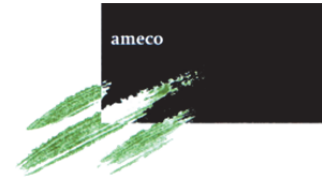
The conclusion of the report is that over the past decade there have been no fundamental changes in the elements that COGEM takes into account in the risk assessment of chimeric viruses and that affect the consistency of the advices. A number of inconsistencies were observed, and these appear to be mainly due to the style of the advices that aims at providing a clear and readable text to the reader.

New knowledge has led to changes in the advices, but this cannot be seen as inconsistencies; the best example being advices concerning the *Influenza A* virus.

In summary, the following points were found concerning consistency within the advices:

Style of the advices:

- In the current style of the advices, general information, new information from the literature, information presented by the applicant, the GMO Office and the COGEM, are presented in the same text. It is not always specified which arguments were decisive in the conclusion of the advice.



Consistency within the advices:

- The consistency within the advices published during the years 2004-2014 scores good to acceptable for the different criteria.
- The description of the GMO can be improved in some cases, especially the description of the functions of the donor genes of the chimeric virus and the gene products.
- The elements of the argumentation; effects on tropism, pathogenicity and dissemination of the virus, all have an 'acceptable' score. However, tropism and dissemination are not always (fully) discussed and it is not always explained why they are not taken into account.
- Pathogenicity scores 'good' and the standard rule on using the pathogenicity classification of the parent viruses to determine the level of containment is used in a consistent manner.
- The conclusions of the advices are presented in a consistent way as well. Sometimes however some elements lack in the conclusion while they have been mentioned in the argumentation of the advice.
- The argumentation for the additional measures is not always presented in a clear way and sometimes additional measures are requested that are already part of the Regulation (see Appendix A).

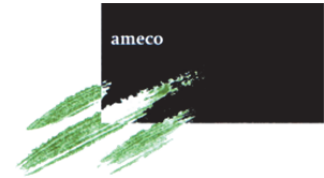
Consistency between the advices:

- Reference to previous, comparable advices published by COGEM is made in a consistent way.
- Conclusions from previous advices are repeated, often with a small nuancing which is not always explained. This is mainly the case for the additional measures.
- Sometimes different additional measures are requested for similar cases without any explanation given.

In general, the 'narrative' style of the advices causes the argumentation to be presented differently in the different advices, probably caused by the different discussions held for each advice.

The above mentioned inconsistencies within and between the advices can probably be attributed to the characteristics of the advising process. This process is mainly shaped by the permitting procedures. A permit application has to be assessed within a fixed, and often short, period of time, regardless of the complexity of the request. Requests concerning chimeric viruses are typically complex and often there is limited empirical information available. The following recommendations are based on the above mentioned findings and may help to maintain consistency within the context of the process:

- If the advices would follow a clear and consistent format, the problem of elements that are not mentioned in the text without a clear reason would be solved. A proposal for such a format is provided further on.



- Some information, for instance the general information on a viral species, frequently returns in the advices. These texts could be further standardized. When in a particular advice additions or differences in these texts are necessary, they could then be mentioned and explained explicitly.
- A similar standardization could be performed for the additional safety measures.
- In some cases the advice covers different questions, e.g., the pathogenicity class of a virus, as well as a risk assessment of its use as an acceptor virus for additional genes. It is recommended that such questions are clearly treated separately, and that for the risk assessment the full format is followed, even if this leads to repetitiveness of the text.

The following standardized format for advices on chimeric viruses is proposed, for further discussion:

1. Request for advice

This section covers the reason for the request, for instance a permit application; a short description why this concerns a chimeric virus; a summary of relevant previous advices.

2. Description of intended use.

Such as: construction of a gm virus, laboratory studies, animal studies, (large scale) production, clinical trials.

3. Description of the gm virus, in terms of the acceptor virus, the donor virus and the sequences and techniques that have been used for genetic modification.

4. Description of potential or experimentally observed interactions between the acceptor virus and the donor sequences, taking into account:

- a. tropism and host range of the gm virus;
- b. pathogenicity of the GM virus
- c. the potential for spreading of the GM virus.
- d. any other relevant interactions (such as mentioned in part B of fig. 1).

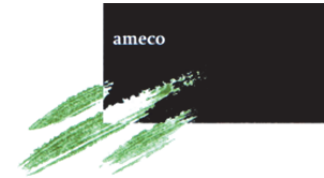
Use of previous advices should be mentioned, including a statement whenever previous advices on the same or similar situations are deemed not applicable to the case.

5. Conclusions regarding:

- a. Contained use: required physical containment and additional safety measures.
- b. Deliberate release: whether the intended activities can be performed without risk for human health or the environment, and the applicable safety measures.

Relevant conclusions in previous advices, including previously requested safety measures, should be mentioned, and any deviations should be argued.





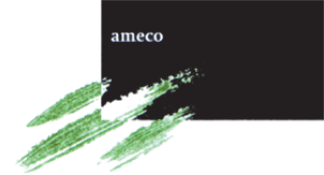
1 Inleiding

1.1 Doel van het onderzoek

De complexiteit van de adviesvragen waarover de COGEM moet adviseren is in het laatste decennium voortdurend toegenomen. Dat is onder andere zichtbaar in de adviesvragen waarbij het gaat om werkzaamheden met chimere virussen. Het uitwisselen van onderdelen tussen meer en minder verwante virussen wordt gebruikt in het fundamentele onderzoek, om functies van virale elementen vast te stellen, en in toegepast onderzoek, bijvoorbeeld bij de ontwikkeling van virale vaccins.

Recentelijk heeft de COGEM de pathogeniteitsindeling en de criteria die worden gehanteerd bij de 'inschaling' (i.e. de vaststelling van de veiligheidsvoorschriften) van een groot aantal virussen opnieuw beoordeeld. De veiligheidsbeoordeling van chimere virussen neemt in de advisering van de COGEM een aparte plaats in, omdat in gg chimere virussen sequenties afkomstig van verschillende virussen of virusstammen worden gecombineerd. Daarbij kan verwacht worden dat er interacties plaatsvinden tussen de genproducten van deze virale genen die van invloed zijn op de eigenschappen van het gg virus.

Mede doordat wetenschappelijke inzichten continu veranderen, bestaat de mogelijkheid dat bij de advisering over (chimere) virussen in de loop der jaren een verschuiving is opgetreden in de elementen die een rol spelen bij de beoordeling van de mogelijke risico's. Dergelijke verschuivingen zijn onontkoombaar, maar ten behoeve van de consistentie van de advisering moeten ze wel worden onderbouwd. De COGEM vond het daarom wenselijk om de consistentie van de adviezen over werkzaamheden met chimere virussen voor de afgelopen 10 jaar in beschouwing te laten nemen. Daartoe is aan Ameco de opdracht verleend om een check op deze consistentie over de afgelopen 10 jaar uit te voeren.



2 Chimere virussen en milieurisicoanalyse

2.1 Chimere virussen

De gebruikte definitie voor een chimeer virus binnen deze studie is: *een recombinant virus dat bestaat uit de combinatie van (een gedeelte van) de genomen van twee of meer virussen en dat biologische eigenschappen die karakteristiek zijn voor de oudervirussen tot uiting kan laten komen.*

Deze definitie sluit grotendeels aan bij het rapport dat op verzoek van de COGEM door Peeters is opgesteld onder de titel "[Recombinant and chimeric viruses: Evaluation of risks associated with changes in tropism](#)"[2]. In dit rapport gaat Peeters in op het feit dat het onderscheid tussen een recombinant virus en een chimeer virus vaak lastig is vast te stellen. Hij voegt daarom aan de definitie toe dat een chimeer virus tenminste één functioneel gen van een donovirus moet bevatten. Het kan hierbij gaan om een of meerdere toegevoegde genen, of om vervanging van een gen.

Een 'chimeer virus' voldoet daarmee aan een of meer van de volgende kenmerken:

- Een chimeer virus is een virus waarvan de genetische informatie is opgebouwd uit de genetische informatie voor één virus (de 'acceptor', of 'vector') en dat daarnaast genetische informatie bevat voor tenminste één functioneel gen van een ander virus (de 'donor').
- Het gen afkomstig uit de donor kan een toevoeging zijn aan het genoom, maar het kan ook een (homoloog) gen uit de acceptor vervangen.
- De donor en acceptor kunnen behoren tot verschillende virussoorten of families, maar het kan ook gaan om verschillende stammen van een zelfde virussoort.
- Het genoom van gesegmenteerde virussen wordt hierbij als één geheel gezien, in de zin dat reassortanten van genoomsegmenten afkomstig van verschillende stammen van, bijvoorbeeld, influenzavirussen worden gezien als chimere virussen.

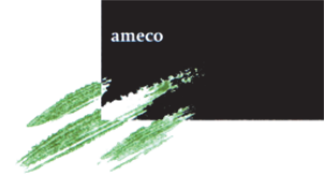
Deze regels dekken de gevallen die in de bestudeerde adviezen "chimeer" worden genoemd.

Impliciet is in deze definitie gesteld dat toevoeging of uitwisseling van alleen niet-coderende virale sequenties zoals promotoren, op zich niet leiden tot de vorming van een chimeer virus. Hierover is discussie mogelijk, zie de opmerkingen over promotoren in paragraaf 4.2.1.

Binnen dit onderzoek ligt de nadruk op replicatie competente virussen (maar voor nuanceringen zie bijvoorbeeld CGM/050615-01, CGM/060314-01 en CGM/100707-01).

2.2 Milieurisicoanalyse

De COGEM adviseert de over de mogelijke milieurisico's van ggo's. In het kader van deze adviserende taak voert de COGEM een milieurisicoanalyse uit, zo ook in geval van werkzaamheden met chimere virussen. De adviezen die in de verslagperiode zijn



uitgebracht betreffen zowel toepassingen van chimere virussen onder ingeperkt gebruik als voor introductie in het milieu, in klinische studies.

De milieurisicoanalyse die door de COGEM wordt uitgevoerd neemt achtereenvolgens de volgende aspecten in beschouwing:

1. De karakterisering van het ggo: het uitgangsgo, het genetisch materiaal dat daarin is gebracht, de veranderde eigenschappen die het gevolg zijn van de modificatie, en de schadelijke effecten die het ggo daardoor zou kunnen krijgen;
2. Een beschouwing over de consequenties van de schadelijke effecten van het ggo en de kans dat een schadelijk effect ook daadwerkelijk optreedt onder de omstandigheden waaronder het ggo wordt toegepast;
3. Op basis van (1) en (2), een inschatting van het risico van de toepassing van het ggo;
4. Als uit de conclusie onder (3) blijkt dat het risico niet verwaarloosbaar is: mogelijkheden voor het toepassen van risicobeheersingsmaatregelen;
5. Een inschatting van het risico, dit alles in beschouwing nemende.

De risicoanalyse van de introductie in het milieu van een ggo volgt dit stramien, waarbij per geval wordt ingegaan op de punten (1) t/m (5) en waarbij de noodzakelijke risicobeheersingsmaatregelen per geval worden vastgesteld.

De risicoanalyse van ingeperkt gebruik volgt in principe een sterk geformaliseerd stramien dat is vastgelegd in Bijlage 5 (zie Appendix B) van de 'Regeling genetisch gemodificeerde organismen' (verder: 'de Regeling'), zoals die van toepassing was gedurende de periode die het onderzoek beslaat. Hierbij komen de elementen (1) t/m (5) wel terug, maar sterk gestroomlijnd: het ggo wordt geïncubated op basis van de pathogeniteitsklasse van de gastheer en de potentiële schadelijkheid van de in de gastheer geïncubated sequenties. Uit deze risicoanalyse volgt een advies over het 'inperkingsniveau' waaronder werkzaamheden plaats moeten vinden. Deze inperkingsniveaus beschrijven de vereiste fysieke inperking en de risicobeheersingsmaatregelen die genomen moeten worden. De inperkingsniveaus staan beschreven in Bijlage 4 van de Regeling (zie Appendix A) en beschrijven de inrichtings- en werkvoorschriften die gesteld worden aan laboratoria, diervverblijven voor dieren in associatie met micro-organismen, en ruimten voor grootschalige productie.

Waar de methodiek van Bijlage 5 in het algemeen een correcte en bruikbare uitkomst van de risicoanalyse geeft, kan deze ook te 'streng' uitvallen. In een dergelijk geval kan een op het geval toegesneden risicoanalyse worden gemaakt, waarbij rekening gehouden wordt met de specifieke eigenschappen van het ggo. Hierbij worden de vijf stappen gevolgd, die hierboven staan beschreven; de uitkomst van de risicoanalyse is dan een van de inperkingsniveau's beschreven in Appendix A; deze kan verfijnd worden door aan de voorschriften van het betreffende inperkingsniveau aanvullende voorschriften toe te voegen. De gevallen van ingeperkt gebruik waarover de vergunningverlener de COGEM om advies vraagt zijn over



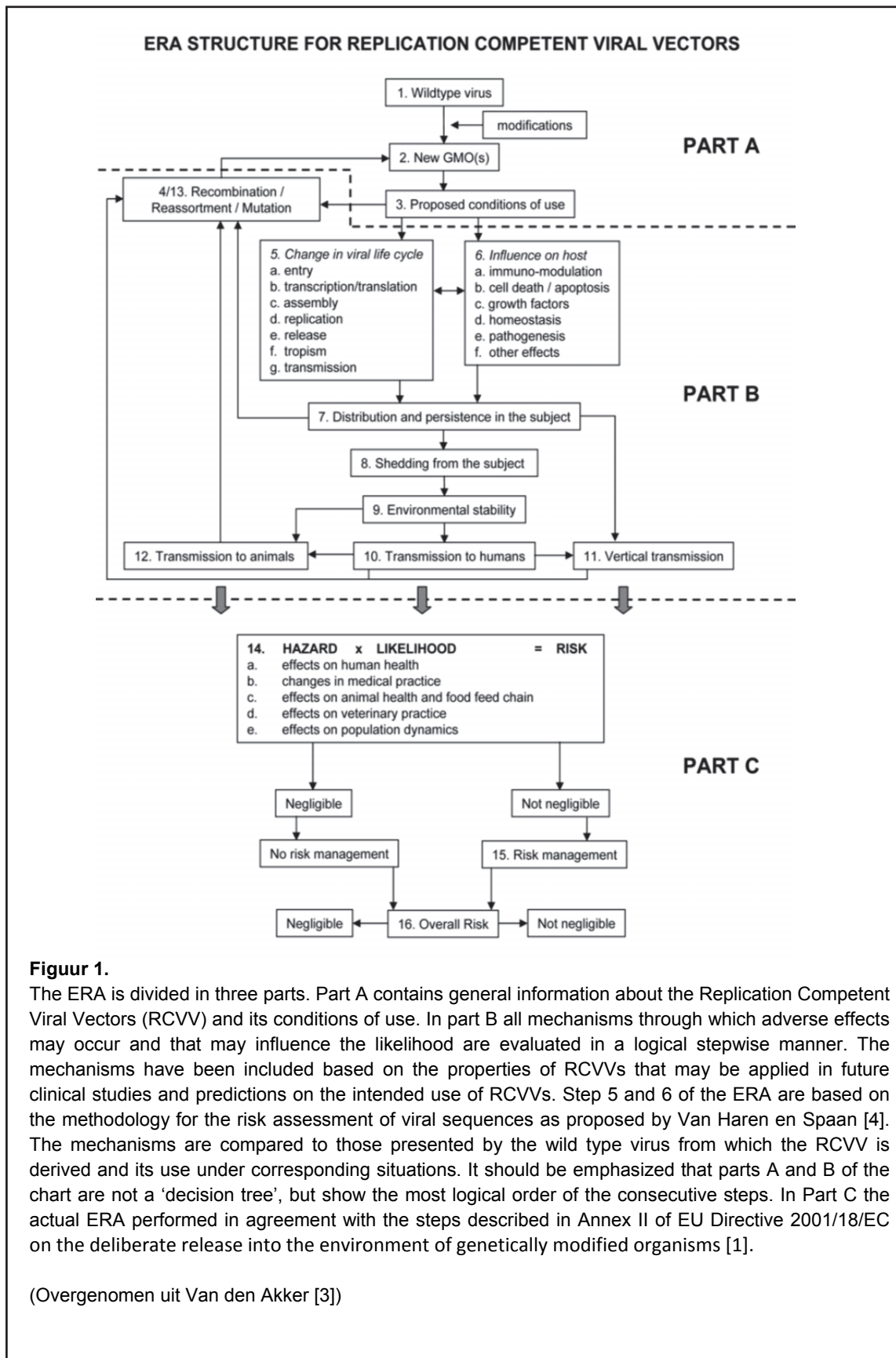
het algemeen niet de gevallen die eenvoudig kunnen worden afgehandeld door het vaste stramien toe te passen, maar vereisen een meer gedetailleerde risicoanalyse.

Risicoanalyse van chimere virussen

Chimere virussen ontstaan doordat sequenties afkomstig van verschillende virussen of virusstammen worden gecombineerd. Hierbij ontstaat de kans dat interacties plaatsvinden tussen de genproducten van deze virale genen, die tot uiting kunnen komen in de eigenschappen van het gg virus. De gevolgen van deze interacties zijn over het algemeen (nog) niet altijd bekend en chimere virussen verdienen daarmee extra aandacht bij de risicoanalyse.

Bij de risicoanalyse van chimere virussen gaat het in principe om een analyse van replicatie competente gg virussen. Het rapport "[Environmental risk assessment of replication competent viral vectors in gene therapy trials](#)" van Van den Akker [3] geeft een gedetailleerde beschouwing over de risicoanalyse van replicatie competente virussen. De beschouwing wordt samengevat in figuur 1, overgenomen uit het rapport (ERA: Environmental Risk Assessment). In deze beschouwing gaat het vooral om de invloed die het genproduct van een in het virus gekloneerd gen kan hebben op de eigenschappen van het virus. Vergelijkbare overwegingen vinden we in het genoemde rapport van Peeters [2] dat zich toespitst op de beschrijving van de risicofactoren van veranderingen in het tropisme van chimere virussen. Daar worden de risico's als volgt onderverdeeld (tabel 1):

Tabel 1: Risicofactoren ten gevolge van veranderingen in tropisme van recombinant en chimere virussen
Risico's voortkomend uit eigenschappen van de vector: <ol style="list-style-type: none">1. Het virus is replicatie competent2. De pathogeniteit en virulentie van het vector virus
Risico's voortkomend uit veranderingen in tropisme met betrekking tot receptor interacties: <ol style="list-style-type: none">1. Het virus heeft een uitgebreid cel- en weefsel tropisme verkregen2. Het virus heeft een nieuw cel- en weefsel tropisme verkregen3. Het virus heeft een nieuwe gastheer specificiteit verkregen4. Het virus heeft een specifiek tropisme voor kwetsbare cellen (b.v. cellen van het immuunsysteem, neuronen)5. Het virus heeft een onbekend tropisme ten gevolge van een onbekende receptor specificiteit6. Het virus heeft een onbekend tropisme omdat niet bekend is op welke cellen de receptor Voorkomt
Risico's voortkomend uit veranderingen in tropisme met betrekking tot antivirale responsen: <ol style="list-style-type: none">1. Het virus is beter in staat om de interferon respons te remmen2. Het virus is ongevoelig geworden voor antivirale gastheer responsen3. Het virus heeft het vermogen om de interferon respons van een andere species te remmen4. het virus heeft het vermogen om te interfereren met de algemene immuun respons5. Het virus produceert een cytokine dat aanleiding geeft tot een verkeerd type antivirale respons waardoor de pathogeniteit van het virus wordt verhoogd
Risico's voortkomend uit gastheerfactoren: <ol style="list-style-type: none">1. De gastheer is naïef voor de virusklasse waartoe het recombinant of chimere virus behoort2. De gastheer heeft een sterk verzwakt immuunsysteem





De reden om specifiek naar de risicoanalyse van chimere virussen te kijken is dat door het combineren van twee verschillende virussen, de biologische kenmerken van het nieuwe virus kan verschillen van de oudervirussen. Doordat er vaak weinig informatie bekend is over de mogelijke interacties tussen gastheervirussen en donorvirussen, kunnen gevolgen niet altijd goed voorspeld worden (Peeters [2]).

Deze overwegingen gelden niet alleen wanneer sequenties van twee virussen worden gecombineerd, maar ook en meer algemeen wanneer sequenties van verschillende herkomst worden gecombineerd, bijvoorbeeld virale en animale sequenties. Echter, bij het combineren van virale sequenties gaat het om genen die afkomstig zijn uit organismen die 'gespecialiseerd' zijn in pathogenese: het binnendringen in cellen van een ander organisme en zich daar vermenigvuldigen en verspreiden. In principe is ieder gen van een virus betrokken bij deze activiteit; virussen beschikken niet over 'huishoudgenen', die functies lenen ze nu juist van de animale cel waarin ze binnendringen. Virale genen die worden ingebracht in een gastheervirus zijn daarom in principe 'verdacht' en potentieel gevaarlijk.

Het is daarom van belang dat in de adviezen die een chimeer virus betreffen, de beschrijving van het virus een duidelijk beeld geeft van wat de chimere aspecten zijn. In de risicoanalyse wordt ingegaan op de effecten die de donorgenen en hun genproducten kunnen hebben op de eigenschappen van het ggo in vergelijking tot het uitgangsvirus.

3 Consistentiecheck chimere virussen

3.1 Inleiding

Dit rapport betreft de consistentie van adviezen die de COGEM heeft uitgebracht in de periode 2004-2014 over werkzaamheden met chimere virussen. In dit hoofdstuk wordt ingegaan op de aanpak van het onderzoek en de gebruikte criteria voor de analyse.

Consistentie

Bij de consistentiecheck worden zowel de consistentie *binnen* een advies als de consistentie *tussen* adviezen in beschouwing genomen. Consistentie binnen een advies vereist dat de aandachtspunten die in het vorige hoofdstuk zijn benoemd systematisch worden behandeld en dat de conclusies worden onderbouwd. Consistentie *tussen* de adviezen over chimere virussen eist dat deze aandachtspunten bij iedere beoordeling van een adviesvraag op vergelijkbare wijze worden toegepast. De volgende overwegingen zijn, *mutatis mutandis*, van toepassing op de beoordeling van beide vormen van consistentie.

Er is a priori geen reden waarom de chimere aspecten bij het ene chimere virus zwaarder zouden moeten wegen dan bij het andere. Omwille van de consistentie zou bij iedere adviesvraag over animale virussen moeten worden nagegaan of het gaat om chimere virussen. Het gg virus moet dan zodanig gekarakteriseerd worden dat daaruit opgemaakt kan worden of het gaat om een chimeer virus en als het een chimeer virus betreft zou dat expliciet moeten worden vermeld.

Het stramien van de beoordeling van de milieuveiligheid van een chimeer virus is gelijk aan het stramien van de milieurisicoanalyse van ieder gg virus en in feite van ieder ggo. De conclusies van de risicoanalyse voor ingeperkt gebruik, namelijk het niveau van fysieke inperking waaronder de handelingen met het gg chimere virus kunnen plaatsvinden en de eventuele aanvullende voorschriften die gelden, moeten berusten op dezelfde uitgangspunten die in verschillende adviezen op dezelfde manier worden toegepast. Voor introductie in het milieu leidt de risicoanalyse tot een vaststelling van veiligheidsmaatregelen die worden toegepast om de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein te maken. Ook deze conclusies, en de noodzaak van de te nemen veiligheidsmaatregelen, moeten bij de afzonderlijke adviezen op grond van dezelfde uitgangspunten worden gebaseerd en beargumenteerd.

Consistentie zit dus in het volgen van een vast protocol voor de risicoanalyse, waarbij voor vergelijkbare situaties vergelijkbare overwegingen in beschouwing worden genomen. De uitkomst van die beschouwingen kan in de loop van de tijd veranderen, op grond van voortschrijdend inzicht (zie het kader op pagina 28 voor een voorbeeld van de uitwerking van een geval van voortschrijdend inzicht). Zo kan een bepaalde virusstam die wordt gebruikt als uitgangsvirus in eerste instantie worden ingeschaald op de pathogeniteitsklasse van het wild type virus waar de stam van is afgeleid. Op grond van experimentele gegevens kan een



inschatting worden gemaakt dat de gebruikte stam als geattenuëerd kan worden beschouwd en de pathogeniteitsklasse kan dan worden verlaagd. Als die gegevens niet beschikbaar zijn, of als er discussie is over de kwaliteit van de gegevens, dan zal voor de inschaling nog worden uitgegaan van een hogere pathogeniteitsklasse. Pas als de vereiste gegevens beschikbaar zijn, zal bij de inschaling een lagere pathogeniteitsklasse worden gehanteerd. De consistentie zit daar in het toepassen van het criterium: uit de pathogeniteitsklasse van het uitgangsvirus volgt een bepaald inperkingsniveau, de inschatting van de pathogeniteitsklasse kan in de loop van de tijd veranderen.

Voortschrijdend inzicht bij advisering over het *Influenza A* virus

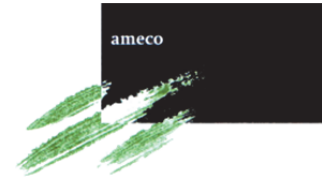
Binnen de verslagperiode is er over de gehele periode een groot aantal adviezen uitgebracht over chimere *Influenza A* virussen. Deze adviezen bieden een goed voorbeeld van hoe voortschrijdend inzicht in zijn werk gaat in de advisering.

De adviezen over werkzaamheden met chimere *Influenza A* virussen berusten op een eerste advies, [CGM/040326-03](#), dat betrekking heeft op *Influenza A* virussen in het algemeen. Alle *Influenza A* virussen worden hier in principe ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3, onafhankelijk van hun herkomst (aviar of humaan). Uit deze inschaling volgt dat werkzaamheden met *gg-Influenza A* virus moeten worden uitgevoerd onder ML-III (en DM-III) omstandigheden; er kunnen aanvullende voorschriften worden opgelegd. Het advies opent daarnaast de mogelijkheid om op case-by-case basis tot een lagere inschaling te komen, op basis van bijvoorbeeld de aard van de experimenten, de keuze van virusstammen of de te gebruiken virale sequenties. In de onderbouwing van het advies wordt ingegaan op de genetische opbouw van *Influenza* virussen als gesegmenteerde virussen; de rol van de verschillende segmenten bij de pathogenese en de virulentie; het feit dat één puntmutatie in verschillende segmenten al kan leiden tot veranderingen van de pathogene eigenschappen en virulentie; en de speciale rol van de splitsingsplaats in het HA eiwit die door zijn al dan niet basische eigenschappen bepaalt in welke celtypen het eiwit gesplitst kan worden.

Op basis van dit advies is de conclusie dat bij uitwisseling van genoomsegmenten of bij het aanbrengen van mutaties aandacht gegeven moet worden aan de pathogeniteit en de virulentie van de resulterende virussen.

De in advies [CGM/040326-03](#) besproken mogelijkheid om op basis van case-by-case overwegingen te komen tot lagere inschaling heeft geleid tot aanvragen waarin wordt verzocht om een lagere inschaling. Dit leidt tot een aantal adviezen waarin gaandeweg de overwegingen voor omlaagschaling en de daarbij op te leggen aanvullende voorschriften vorm krijgen. Er worden ook voorschriften opgesteld voor bijzondere handelingen, zoals grootschalige productie van *Influenza A* virus en productie in met *Influenza A* virus geïnfecteerde geëmbryoneerde kippeneieren.

De COGEM heeft geoordeeld dat het goed zou zijn om de aanvullende voorschriften die in de loop van de tijd zijn opgelegd te harmoniseren. Dat heeft geleid tot advies [CGM/061214-01](#), waarin generieke aanvullende voorschriften worden gegeven voor werkzaamheden met *Influenza A* virussen die worden uitgevoerd onder ML-III of onder ML-II omstandigheden. Dit



advies gaat echter niet in op werkzaamheden met proefdieren. In advies [CGM/070328-01](#) wordt een generiek advies gegeven over aanvullende voorschriften voor werkzaamheden met proefdieren op DM-II niveau, die gelden als het virus in laboratoria op ML-II niveau kunnen worden gehanteerd. Zie ook het kader op pagina 43 voor een gedetailleerde bespreking van de consistentie bij de aanvullende voorschriften.

Belang van consistentie voor aanvragers

Het belang van consistente advisering is het bieden van transparantie aan de afnemers van de adviezen en het borgen van de kwaliteit van de adviezen. Consistentie zorgt daarmee ook voor het uitbannen van willekeur. Voor de aanvrager/vergunninghouder kunnen de consequenties van een (te) hoge inschaling groot zijn. Uitvoering van werkzaamheden onder hogere fysieke inperking is praktisch lastig. Als een aanvrager niet over een werkruimte met het vereiste niveau van fysieke inperking beschikt, kan hij de voorgenomen werkzaamheden niet uitvoeren, of er moeten aanpassingen komen aan de werkruimte, waaraan financiële consequenties verbonden zijn. Het is daarom van belang dat een aanvrager van tevoren een inschatting kan maken van de inschaling.

Onder de nieuwe regelgeving die vanaf 1 maart 2015 van kracht is, is het van belang dat aanvragers een goed beeld hebben van wanneer een gg virus moet worden beschouwd als een chimeer virus dat niet biologisch is ingeperkt. In de nieuwe regelgeving wordt onderscheid gemaakt tussen een inschaling “ML-II–k” en “ML-II–v”, wat leidt tot een verschil in de te volgen procedure: voor projecten die op ML-II–v moeten worden ingeschaald moet een vergunning worden aangevraagd, voor ML-II–k is dat niet het geval. De COGEM heeft aanbevolen (CGM/080923-01 en CGM/081107-01) dat een dergelijke experimentgebonden vergunning wordt vereist als het bij een viraal pathogeen gaat om een chimeer virus dat is opgebouwd uit virussen behorend tot een genus dat zowel species van pathogeniteitsklasse 2 als van klasse 3 bevat en dat biologisch niet is ingeperkt.

3.2. Aanpak van de consistentiecheck

Voor de samenstelling van dit rapport zijn alle adviezen in beschouwing genomen die zijn uitgebracht in de periode van 1 januari 2004 tot en met 5 september 2014 (totaal 498 adviezen¹).

Binnen deze adviezen is gezocht naar adviezen waarin de term ‘chimeer’ (of ‘chimaer’) voorkomt (zoeksleutel: “chim”). Deze adviezen zijn in ieder geval in beschouwing genomen, voor zover zij betrekking hebben op animale virussen. Daarnaast is voor ieder advies bekeken of het (onder meer) gaat om een animaal virus dat voldoet aan de definitie van een ‘chimeer virus’ (zie hiervoor paragraaf 2.1), maar die in het advies niet als zodanig zijn benoemd. Bij de gedetailleerde bespreking van de adviezen worden de ‘chimere aspecten’ van het virus steeds toegelicht.

¹ <http://www.cogem.net/index.cfm/nl/publicaties/categorie/advies/pagina/1>

Criteria bij de consistentiecheck

Er is op twee manieren naar consistentie gekeken; naar consistentie *binnen* een advies (i.e. worden alle relevante aspecten en overwegingen van de risicobeoordeling genoemd en volgt de conclusie consistent op deze overwegingen) en naar consistentie *tussen* verschillende adviezen binnen eenzelfde virusgroep. In dit rapport is naar beide aspecten gekeken, waarbij voor de consistentiecheck *binnen* ieder advies de volgende punten zijn meegenomen in de beoordeling:

1. Kan uit de beschrijving van het ggo worden opgemaakt of het gaat om een chimeer virus en wat de specifieke eigenschappen zijn van het chimere virus die van belang zijn voor de beoordeling?
2. Wat is de onderbouwing die leidt tot de conclusie. Welke aspecten van het uitgangsvirus en van de donorsequenties worden meegewogen en is de onderbouwing consistent binnen het advies en tussen de adviezen?
3. Wat is de conclusie over de inschaling en over eventuele aanvullende voorschriften en is deze conclusie consistent binnen het advies en tussen de adviezen?

De toepassing van deze criteria op de COGEM adviezen over chimere virussen is niet helemaal recht-toe-recht-aan. Dat komt in belangrijke mate door de stijl waarin de adviezen zijn verwoord, die 'verhalend' genoemd kan worden (zie hierover ook paragraaf 4.1).

Deze stijl heeft, naast voordelen, ook nadelen. Een nadeel is dat het erg lastig is om de criteria voor de consistentiecheck eenduidig toe te passen en te bepalen of er een verschuiving is opgetreden in de elementen die een rol spelen in de beoordeling. Voor de analyse is getracht dit op te lossen door in Deel 2 van dit rapport een overzicht op te nemen van alle afzonderlijke adviezen die bij de opstelling van dit rapport in beschouwing zijn genomen. De beschrijvingen in Deel 2 bevatten de volgende onderdelen:

1. Het nummer en de datum van het advies, waarbij het nummer een hyperlink is naar de vindplaats van het advies op het internet;
2. De titel van het advies;
3. 'Betreft:' een beschrijving waar het in het advies om gaat;
4. 'Onderbouwing': de elementen van de onderbouwing die van belang zijn voor de conclusies;
5. 'Conclusies': de conclusies van het advies, waarbij de eindconclusie wordt gevolgd als die duidelijk te onderscheiden is in het advies, niet de (deel) conclusies die in een aantal gevallen gaandeweg in de tekst worden getrokken;
6. Onder 'Opmerkingen': aspecten die betrekking hebben op de analyse van de consistentie.

Analyse van de consistentiecheck

Bij de analyse van de adviezen is gebruik gemaakt van een 'checklist', gebaseerd op bovenstaande criteria, waarin de aspecten van chimere virussen in beschouwing zijn genomen die voor de risicoanalyse van belang zijn:

- De omschrijving van het gg virus en van het uitgangsvirus en de donorgenen en de functie van hun genproducten.
- De onderbouwing die leidt tot de conclusie(s). Hier is gekeken naar drie belangrijke aspecten van het chimere virus: het tropisme of gastheerbereik, de pathogeniteit en de mogelijkheid voor verspreiding van het virus.
- De conclusies over de inschaling en een adequate beschrijving van de aanvullende voorschriften.

Aan ieder advies zijn aan de hand van deze checklist scores toegekend voor de verschillende aspecten: +, - of +/- (zie paragraaf 4.2 voor een beschrijving van de waardering van de scores). Een overzicht van deze scores is weergegeven in Tabel 2) waardoor een overzichtelijk beeld wordt gegeven van de meest opvallende bevindingen van de consistentiecheck. Voor een meer genuanceerde toelichting wordt verwezen naar de behandeling van de individuele adviezen in deel 2 van dit rapport.



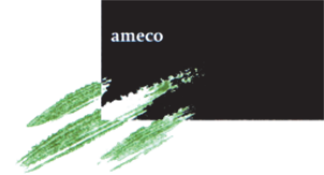
4 Bevindingen

4.1 Opbouw van de adviezen

COGEM adviezen volgen globaal een consistente opbouw: de adviesvraag en de aanleiding voor de adviesvraag worden vermeld en de uitgangsorganismen worden omschreven (het uitgangsvirus en de genen die uit het (de) donororganisme(n) worden verkregen). Dan volgt een beschrijving van het ggo en vervolgens worden de conclusies gegeven en de overwegingen waarop de conclusies berusten. Waar dat van toepassing is wordt verwezen naar eerdere adviezen en over het algemeen wordt uit de inhoud van die adviezen samengevat. Tot slot wordt de uitkomst van het advies samengevat. In deze globale opbouw is voor de adviezen uitgegeven tussen 2011-2014 geen verandering geconstateerd.

Voor de onderbouwing van de adviezen wordt, waar van toepassing, verwezen naar diverse bronnen: wetenschappelijke gegevens uit de literatuur, experimentele gegevens die zijn aangedragen door de aanvrager, andere overwegingen die o.a. kunnen berusten op 'expert judgement', en in een aantal gevallen ook conclusies aangedragen door de aanvrager of door Bureau GGO.

Bij de behandeling van al deze gegevens is echter niet gekozen voor een vast en strikt gevolgd stramien. De stijl van de adviezen kunnen eerder worden omschreven als 'verhalend'. Dat kan voor de lezer plezierig uitpakken: de gegevens worden niet geforceerd in een bepaalde vorm, maar kunnen in een logische gedachtegang worden geformuleerd. Dit kan echter ook leiden tot overwegingen die door elkaar heen lopen: 'aan de ene kant' en 'aan de andere kant'. Daarbij is het soms lastig om in het lopende verhaal te zien wat precies de doorslaggevende elementen zijn. Soms worden in het verhaal al conclusies getrokken of aanbevelingen gedaan. Deze komen niet in alle gevallen consequent terug in de eindconclusie. Ten slotte zijn de adviezen soms niet helemaal in deze vorm te vangen, bijvoorbeeld als het gaat om de bepaling van de pathogeniteitsklasse van een bepaald virus. Hierna volgt dan nog een beschouwing over het ggo waarmee de aanvrager wil werken, dat dan soms meer 'terloops' wordt behandeld. Ook als de adviesvraag gaat over een bepaald aspect, zoals bijvoorbeeld grootschalige activiteiten met een ggo, waarbij het meer gaat over de grootschalige installatie dan over het ggo. Waar gesproken wordt over de vraag of een installatie waarover de aanvrager beschikt adequaat is om handelingen met het ggo uit te voeren, spitst het advies zich vanzelfsprekend toe op die specifieke installatie, maar het wordt niet altijd duidelijk of de beschreven eigenschappen van de installatie ook eisen zijn die in hun algemeenheid aan dergelijke installaties moeten worden gesteld.

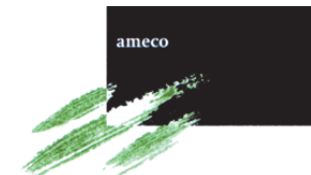


4.2 Consistentie binnen de adviezen

In dit onderzoek is op twee manieren naar consistentie gekeken: naar consistentie *binnen* een advies en naar consistentie *tussen* verschillende adviezen binnen eenzelfde virusgroep. In deze paragraaf wordt ingegaan op de consistentie binnen de adviezen. Tabel 2 geeft een samenvatting van de resultaten van de consistentiecheck. Bij de uitvoering van de check is gebruik gemaakt van de criteria beschreven in hoofdstuk 3; de criteria staan kort aangeduid in de kop van de tabel. Meer gedetailleerde gegevens over de resultaten voor de afzonderlijke adviezen zijn vermeld in deel 2 van dit rapport.

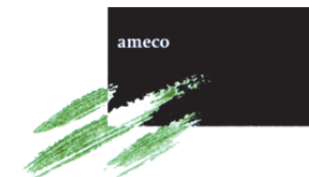
De scores zijn verdeeld over + (volledig beschreven), +/- (beschrijving aanwezig, maar essentiële informatie ontbreekt of er zijn opmerkingen bij) en – (beschrijving ontbreekt). Deze resultaten zijn gescoord als percentages van het totaal aantal adviezen waarvoor een +, +/- of – kon worden gegeven. Adviezen waarvoor het criterium niet van toepassing is, of waarvoor geldt dat het advies op dit onderdeel is gebaseerd op een eerder advies werden bij de bepaling van het percentage niet meegerekend. Voor de analyse van de resultaten is als (arbitrair) uitgangspunt gekozen dat dat scores boven de 80% als goed worden geclassificeerd en scores onder de 50% als onvoldoende, scores tussen de 50-80% worden voldoende geacht.

In de paragrafen 4.2.1-4.2.3 wordt in meer detail ingegaan op de bevindingen.

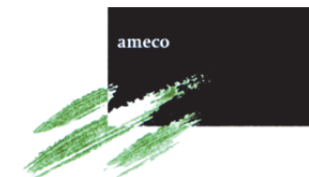


Tabel 2: Overzicht resultaten consistentiecheck binnen de adviezen

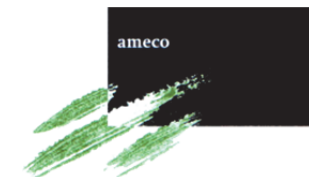
	Nr.	Adviesnr.	Checklist								Opmerking
			Omschrijving ggo		Onderbouwing			Conclusie			
			Uitgangsvirus(sen) beschreven	Functie donor-gen(en) beschreven	Tropisme van het ggo	Pathogeniteit van het ggo	Verspreiding van het ggo	Inschaling volgt consistent uit onderbouwing	Aanvullende voorschriften adequaat beschreven	Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing	
Algemene adviezen	1-3	CGM/080923-01 CGM/081107-01 CGM/111123-01	nvt	nvt	nvt	Nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	Algemene adviezen die van toepassing zijn op deze studie
Adeno	4	CGM/140707-01	+	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+/-	
Alpha	5	CGM/040212-02	+	+	-	+	+	+/-	+	+	
	6	CGM/060314-01									
	7	CGM/111222-02	+	+	+	+	+	+(IM)	+(IM)	+(IM)	
Bunyaviridae	8	CGM/120829-02	+	+	-	-	+	+/-	+	+/-	
Canine parvo	9	CGM/120125-01	+	+	-	+	+	+	+	+	
CSF	10	CGM/070626-03	+	-	+	-	-	(ea)	-	-	
Corona	11	CGM/090227-03	+	+	+	+	+	+/-	+	-	
	12	CGM/120104-01	+	+	+	+	+/-	+	+/-	-	



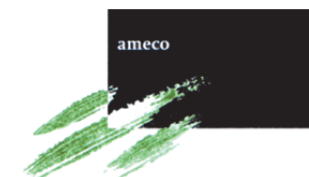
	Nr.	Adviesnr.	Checklist								Opmerking
			Omschrijving ggo		Onderbouwing			Conclusie			
			Uitgangsvirus(sen) beschreven	Functie donor(en) beschreven	Tropisme van het ggo	Pathogeniteit van het ggo	Verspreiding van het ggo	Inschaling volgt consistent uit onderbouwing	Aanvullende voorschriften adequaat beschreven	Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing	
Flavi	13	CGM/050615-01	+	+	-	+	-	+	+	+	
	14	CGM/090119-04	+	+	+	+	+	+	+	+	
	15	CGM/070724-01	+	+	+	+	+	+	+	+	
	16	CGM/120814-02	(ea)	(ea)	(ea)	(ea)	(ea)	(ea)	+	+	
HDV	17	CGM/100707-01	+	-	-	-	-	+/-	+	+	
Herpes	18	CGM/040928-03	+	+	+	+	+	+(IM)	+(IM)	+(IM)	
	19	CGM/120207-02	+	-	+	+	+	-	+	+	
	20	CGM/120611-01	+	+	+	+	+	+(IM)	+(IM)	+(IM)	
	21	CGM/120718-01	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	
	22	CGM/121024-01	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	(ea; CGM/120611-01)	
hMPV	23	CGM/091124-04	+	-	+	+	+	+	-	-	
Humaan Parecho	24	CGM/070115-01	-	-	+	+	+	+	+	+	
Influenza A	25	CGM/040326-03	+	nvt	nvt	Nvt	nvt	+	+	+	Het gaat om de inschaling van <i>Influenza A</i> , niet-ggo; advies is van toepassing op de volgende <i>InfluenzaA</i>



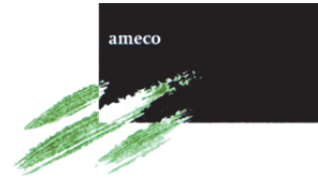
Nr.	Adviesnr.	Checklist									Opmerking
		Omschrijving ggo		Onderbouwing			Conclusie				
		Uitgangsvirus(sen) beschreven	Functie donor(en) beschreven	Tropisme van het ggo	Pathogeniteit van het ggo	Verspreiding van het ggo	Inschaling volgt consistent uit onderbouwing	Aanvullende voorschriften adequaat beschreven	Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing		
										adviezen.	
26	CGM/040518-02	+	+/-	+	+	+	+	+	+		
27	CGM/040809-01	+	+/-	+	+	+	+	+	+		
28	CGM/050201-01	+	+/-	+	+	+	+	+	+		
29	CGM/060224-01	+	+	+	+	+	+	+	-		
30	CGM/060228-02	+	+	(ea; CGM/060224-01)	(ea; CGM/06024-01)	(ea; CGM/06024-01)	+	+/-	-		
31	CGM/060329-02	(ea; CGM/050201-01 , CGM/060224-01 , CGM/060228-02)	(ea; CGM/050201-01 , CGM/060224-01 , CGM/060228-02)	(ea; CGM/050201-01 , CGM/06024-01 , CGM/06028-02)	(ea; CGM/050201-01 , CGM/060224-01 , CGM/060228-02)	(ea; CGM/050201-01 , CGM/060224-01 , CGM/060228-02)	+	+/-	-		
32	CGM/060724-04	+	+	-	+	-	+	(ea; CGM/050201-01)	(ea; CGM/050201-01)		
33	CGM/060926-01	+	+	-	+	+	+	+/-	+/-		
34	CGM/061024-01	+	+	-	+	+	+	+	+		
35	CGM/061214-01	nvt	nvt	-	+	+	+	-	nvt	De aanvullende voorschriften zijn onvolledig: er wordt niet gesproken over dierverblijven	
36	CGM/061218-01	+	+	+	+	-	+	(ea; CGM/061214-01)	(ea; CGM/061214-01)		
37	CGM/070222-03	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/061024-01)	(ea; CGM/06104-01)	(ea; CGM/061024-01)		
38	CGM/070328-01	(ea; CGM/061214-01)	(ea; CGM/061214-01)	(ea; CGM/061214-01)	(ea; CGM/061214-01)	(ea; CGM/061214-01)	+	+	+		



	Nr.	Adviesnr.	Checklist								Opmerking
			Omschrijving ggo		Onderbouwing			Conclusie			
			Uitgangsvirus(sen) beschreven	Functie donor(en) beschreven	Tropisme van het ggo	Pathogeniteit van het ggo	Verspreiding van het ggo	Inschaling volgt consistent uit onderbouwing	Aanvullende voorschriften adequaat beschreven	Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing	
	39	CGM/070515-01	+	(ea; CGM/05020101)	(ea; CGM/050201-01)	(ea; CGM/050201-01)	(ea; CGM/05020101)	+	+	+	
	40	CGM/100830-02	+	+	+	+	-	+	+	+	
	41	CGM/110921-01	+	+	+	+	+	+	+	-	
	42	CGM/130530-01	+	+	-	+	-	+	+	+	
Influenza B	43	CGM/130424-01	+	+/-	-	-	-	+	+/-	-	
Lyssa	44	CGM/101109-03	+	+	+	+	+	+	+	+	
Measles	45	CGM/121206-01	+	+	+	+	+	+	+	+	
MKZV	46	CGM/060711-01	+	+	-	+	+	+	+/-	+/-	
Orbi	47	CGM/100712-05	+	+	+	+	+	+	+	+	
Paramyxo	48	CGM/140404-01	+	+	+	+	+	+	+	+	



	Nr.	Adviesnr.	Checklist								Opmerking
			Omschrijving ggo		Onderbouwing			Conclusie			
			Uitgangsvirus(sen) beschreven	Functie donor(en) beschreven	Tropisme van het ggo	Pathogeniteit van het ggo	Verspreiding van het ggo	Inschaling volgt consistent uit onderbouwing	Aanvullende voorschriften adequaat beschreven	Aanvullende voorschriften volgen consistent uit onderbouwing	
Phleb	49	CGM/110322-01	nvt	nvt	nvt	Nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	Vertrouwelijk advies
	50	CGM/120716-02	nvt	nvt	nvt	Nvt	nvt	nvt	nvt	nvt	Vertrouwelijk advies
Vacinia	51	CGM/061012-01	+	+	-	+	+	+ (IM)	+ (IM)	+ (IM)	
	52	CGM/120625-01	+	+	+	+	+	+ (IM)	+ (IM)	+ (IM)	
	53	CGM/120928-01	+	+	+	+	+	+ (IM)	+ (IM)	+ (IM)	
MVA	54	CGM/080721-03	+	-	-	-	-	-	-	-	
	55	CGM/081106-01	+	+	+	+	+	+ (IM)	+/- (IM)	+/- (IM)	
NYVAC	56	CGM/110815-03	+	-	-	+	-	+	-	+	
VSV	57	CGM/120417-02	+	+	+	+	+	+	+	+	
		Scores: (percentages zijn afgerond, de som kan afwijken van 100%)	+: 98% -: 0% +/-: 2%	+: 74% -: 16% +/-: 9%	+: 63% -: 35% +/-: 2%	+: 86% -: 12% +/-: 2%	+: 74% -: 23% +/-: 2%	+: 87% -: 4% +/-: 9%	+: 72 % -: 11% +/-: 17%	+: 67 % -: 22% +/-: 11%	
		+	Volledig beschreven								
		-	Beschrijving ontbreekt								
		+/-	Beschrijving aanwezig, maar essentiële informatie ontbreekt of er zijn opmerkingen bij								
		Nvt	Niet van toepassing								
		(ea)	Gebaseerd op een eerder advies dat buiten de verslagperiode is gemaakt (eventueel gevolgd door het nummer van het advies)								
		(IM)	Het gaat om introductie in het milieu; de bepaling van de veiligheidsmaatregelen en de inschaling verloopt dan niet volgens het stramien van ingeperkt gebruik.								



4.2.1 Bevindingen 'Beschrijving van het ggo'

Gekeken is of uit de beschrijving kan worden opgemaakt of het gaat om een chimeer virus², en wat de specifieke eigenschappen zijn van het chimere virus die van belang zijn voor de beoordeling.

Uit tabel 2 blijkt dat de omschrijving van de uitgangsvirussen in vrijwel alle gevallen volledig (98%) is; de omschrijving van de functies van de donorgenen scoort voldoende (73%+).

De donorsequenties worden over het algemeen wel benoemd in de adviezen, maar er wordt niet altijd ingegaan op de mogelijke effecten die de donorgenen zouden kunnen hebben op de eigenschappen van het chimere virus. Als er wel op wordt ingegaan, blijft het vaak bij een constatering dat er geen schadelijke effecten zijn te verwachten. Voorbeelden zijn te vinden in de gedetailleerde beschrijvingen van de adviezen.

Voorbeelden waar in de risicoanalyse de donorgenen niet volledig worden behandeld zijn CGM/080721-03 (Inschaling van werkzaamheden met NYVAC-C mutanten) en CGM/070626-03 (Inschaling werkzaamheden met gg *Hog cholera virus* (varkenspestvirus) en *Bovine viral diarrhea virus*). In het laatste geval bestaat echter de indruk dat het gebrek aan detail ook al in de aanvraag zit³.

De beschrijvingen van de chimere *influenza A* virussen zijn in een aantal gevallen niet helemaal eenduidig. Een argument voor lagere inschaling is dat een *Influenza A* virus is opgebouwd uit tenminste zes segmenten van een laag pathogene virusstam en maximaal twee segmenten van een hoog pathogene stam. Vaak wordt daarbij een opmerking gemaakt dat het HA eiwit geen basische klievingssite draagt, maar de herkomst van dit segment, uit de hoog of laag pathogene stam, is daarbij niet steeds duidelijk. Voorbeelden van adviezen waarin het niet geheel duidelijk is om welke genoomsegmenten het gaat zijn CGM/040809-01 (Pathogeniteitstudies naar hoog- en laagpathogene influenza A virussen) en CGM/050201-01 (Pathogeniteitstudies met recombinante influenza A virussen).

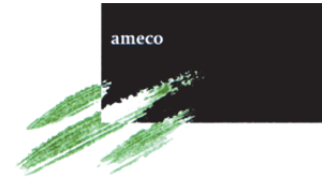
In het advies CGM/100707-01 (Classificatie van *Hepatitis delta virus* en inschaling werkzaamheden met gg HDV deeltjes) wordt het ggo omschreven als 'HDV deeltjes die de oppervlakte-eiwitten van HBV tot expressie brengen'. Dit doet veronderstellen dat het gaat om een chimeer virus, maar bij nadere beschouwing blijkt het te gaan om pseudotypering.

In CGM/110815-03 (Classificatie van *Vesicular stomatitis virus*) worden de donorgenen omschreven als 'sequenties van virale fusie-eiwitten afkomstig uit *Influenzavirus A*, *coronavirussen*, *rhabdovirussen*, *paramyxovirussen*, *bunyavirussen*, *Nairovirus*, *Hantavirus* en *baculovirussen*', maar de genen worden verder niet gekarakteriseerd.

Bij de beschrijvingen van de gg virussen valt op dat de gebruikte regulatoire sequenties zoals promotoren slechts bij uitzondering worden vermeld, terwijl de activiteit van een

² het virus is niet in alle gevallen ook chimeer genoemd; dit is op zich niet gescoord als inconsistentie; zie hierover wel een opmerking in de conclusies in paragraaf 5.1

³ Hierbij moet een aantekening worden gemaakt: de COGEM wordt in de praktijk soms met brede aanvragen geconfronteerd; dit levert problemen op met de consistentie, maar zou een consistente advisering niet in de weg moeten staan.



promoter toch een belangrijk element kan zijn in de risicoanalyse, bijvoorbeeld door kwantitatieve aspecten van de genexpressie en kwalitatieve aspecten in gevallen van weefsel-specifieke expressie.

Voorbeelden waar de promoter wel wordt vermeld zijn: CGM/061012-01 (Fase I klinische studie met een gg MVA virus gericht tegen HIV-B), waar een 'synthetische early/late promoter' wordt genoemd; in CGM/120625-01 (Klinische studie met gg Modified vaccinia virus Ankara vaccin dat codeert voor het Hemagglutinine van *Influenza A* virus), wordt een eveneens synthetische promoter vermeld, maar niet verder in de discussie betrokken. In CGM/061012-01 vindt wel een discussie plaats: de COGEM is van mening dat de daar gebruikte additionele synthetische early/late promotor geen risico vormt. Deze promotor reguleert de expressie van de transgenen en het wordt zeer onwaarschijnlijk geacht dat de promotor een effect heeft op de flankerende MVA genen.

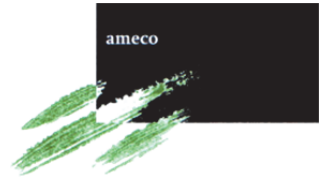
Bij de toepassing van het begrip 'chimeer virus' valt een aantal zaken op. In de adviezen CGM/040212-02 (Constructie en productie van alphavirusvectoren) en CGM/060314-01 (Vaccinatie van apen met recombinante chimere alphavirusvectoren ten behoeve van vaccinonderzoek), kan het chimere construct zich na infectie wel repliceren, maar er kunnen geen virusdeeltjes worden gevormd; ook dit virus wordt 'chimeer' genoemd in het advies. In CGM/070626-03 (Inschaling werkzaamheden met gg *Hog cholera virus* (varkenspestvirus) en *Bovine viral diarrhea virus*) worden virussen waarin animale genen zijn gekloneerd ook 'chimeer' genoemd; deze chimere virussen zijn hier niet in beschouwing genomen omdat het niet gaat om uitwisseling van virale sequenties.

Influenza A virussen die zijn ontstaan door de uitwisseling van genoomsegmenten tussen verschillende *Influenza A* stammen worden in een aantal adviezen 'chimeer' genoemd, maar ook: 'recombinant' en in enkele gevallen 'recombinante chimere virussen'. Het gebruik van de term 'chimeer' is daarmee niet geheel consistent. In deze studie zijn alle adviezen over *Influenza A* virus betrokken waarin er sprake is van uitwisseling van genoomsegmenten.

4.2.2 Bevindingen 'Onderbouwing'

In het onderdeel onderbouwing in tabel 2 is gescoord of in het advies een discussie wordt gevoerd over het tropisme van het ggo (63% +), over zijn pathogeniteit (86% +) en over de verspreidings- karakteristieken (74% +). De scores zijn daarmee in alle gevallen goed of voldoende. Wel valt op dat zowel bij het tropisme als bij de verspreiding de '-' scores hoog zijn. Hier moet echter een zeker voorbehoud worden gemaakt. Als een van deze aspecten niet is behandeld dan valt niet na te gaan of het gaat om een omissie, of dat men van oordeel was dat het betreffende aspect voor dit geval niet relevant was. Wij gaan hier in de aanbevelingen nader op in.

De consistentie van de manier waarop de pathogeniteitsklasse van het uitgangsgenoom wordt gehanteerd als criterium voor de bepaling van de noodzakelijke fysieke inperking kan wel eenduidig worden geanalyseerd. Volgens dit criterium leidt pathogeniteitsklasse 2 tot inschaling ML-II en pathogeniteitsklasse 3 tot inschaling ML-III. Bij chimere virussen is de hoogste pathogeniteitsklasse van de samenstellende virussen in principe leidend. De



inschaling kan zowel omhoog als omlaag worden bijgesteld op grond van eigenschappen van de donorgenen.

In CGM/091124-04 (Onderzoek aan humaan metapneumovirus (hMPV)) wordt als vuistregel genoemd '2+2=2'. Dit betekent dat een combinatie van acceptor en donor virussen van pathogeniteitsklasse 2 leidt tot een inschaling in inperkingsniveau ML-II. Van die regel moet worden afgeweken als er te weinig bekend is over de uitgangsvirussen; in deze gevallen wordt de inschaling ML-III. Een dergelijke verhoogde inschaling zal berusten op de toepassing van het voorzorgbeginsel, maar daar wordt niet op ingegaan. In dit advies wordt gesteld dat deze kennis ontbreekt, al wordt niet helemaal duidelijk welke kennis precies. Iets vergelijkbaars geldt voor CGM/070115-01 (Inschaling van handelingen met humane Parechovirussen), waar ook wordt gesteld dat er weinig bekend is over de virussen, en een vergelijking met enterovirussen een argument is om voorzichtig te zijn met de inschaling.

In CGM/090227-03 (Inschaling van werkzaamheden met recombinante humane coronavirussen) worden de uitgangs/donorvirussen ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, maar worden werkzaamheden met de gevormde chimereën tussen de stammen ingeschaald op ML-III, de reden hiervoor wordt in het advies niet expliciet gemaakt.

Het gaat bij deze opmerkingen om detailkritiek. De algemene trend van de adviezen is daarmee dat er consistent gebruik wordt gemaakt van de pathogeniteitsklasse van de gebruikte virussen. Wel kan de pathogeniteitsklasse veranderen door voortschrijdend inzicht.

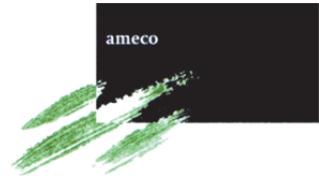
4.2.3 Bevindingen 'Conclusies'

Wat betreft de conclusie is gescoord of de gegeven inschaling (of de conclusie omtrent de milieuveiligheid in het geval van introductie in het milieu) consistent volgt uit de in het advies gegeven onderbouwing; voor de aanvullende voorschriften is gekeken of deze adequaat zijn beschreven en of ze consistent volgen uit de onderbouwing. De scores zijn hier goed voor de consistentie van de inschaling (87% +), en voldoende (72% resp. 67% +) voor de aspecten van de aanvullende voorschriften. Opvallend is dat de wijze waarop de aanvullende voorschriften volgen uit de onderbouwing relatief veel '-' scores heeft (22%).

Belangrijk bij de conclusie binnen een advies is dat de onderdelen van de conclusie een duidelijke gevolgtrekking zijn van de in de onderbouwing van het advies genoemde argumenten. Het onderdeel consistentie van de inschaling scoort op dit punt goed (87%).

Een belangrijke inconsistentie binnen de adviezen doet zich voor als aanvullende voorschriften worden opgelegd zonder dat er een duidelijke onderbouwing wordt gegeven. Er wordt dan bijvoorbeeld gesteld dat aan de handelingen met het ggo geen risico's verbonden zijn voor mens en milieu indien de voorschriften worden nagekomen, maar waarom dit zo is wordt in die gevallen niet bediscussieerd. De mogelijkheid van aërogene verspreiding wordt wel een aantal malen aangehaald als onderbouwing van de aanvullende voorschriften.

Op verschillende plaatsen wordt voor de aanvullende maatregelen verwezen naar voorstellen van de aanvrager of van de regelgever. Als de voorstellen niet worden geciteerd, is het advies op zich zelf staand slecht te beoordelen. In CGM/090227-03 (Inschaling van werkzaamheden met recombinante humane coronavirussen) worden, in tegenstelling tot een



eerder advies, geen aanvullende voorschriften gesteld zonder dat daarvoor een onderbouwing wordt gegeven.

Soms zijn de aanvullende voorschriften onvoldoende duidelijk geformuleerd, doordat er elementen impliciet worden gelaten. Een voorbeeld is CGM/060314-01 (Vaccinatie van apen met recombinante chimere alphavirusvectoren ten behoeve van vaccinonderzoek), waar een aanvullend voorschrift wordt gesteld dat apen getest moeten worden op aanwezigheid van alphavirussen, maar waar niet wordt gezegd wat de consequenties zijn indien in de test alphavirussen worden aangetoond. Ook ontbreken criteria waaraan de test moet voldoen om te kunnen constateren dat er geen alphavirussen aanwezig zijn.

Andere voorbeelden zijn te vinden in de adviezen over het *Influenza A* virus. Daar wordt de eis dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn over het algemeen gesteld als dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn tegen humaan *Influenza A* virus. In een aantal gevallen wordt daaraan toegevoegd dat dit de 'seizoensvariant' van *Influenza A* virus moet zijn. In de voorschriften komt dit echter niet steeds terug. Een aantal malen staat er eenvoudig dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn, zonder vermelding tegen welke specifieke virusstam ze gevaccineerd moeten zijn. Een enkele keer wordt vermeld dat de vaccinatie jaarlijks moet plaatsvinden. Hoewel de context waarin deze voorschriften worden gegeven waarschijnlijk misverstanden voorkomt, zouden dergelijke voorschriften formeel eenduidig en volledig moeten worden gesteld.

Eveneens in de adviezen over *Influenza A* virus wordt in een aantal gevallen gesteld dat heterologe genomsegmenten volledig gekarakteriseerd moeten zijn, zonder dat daarbij wordt vermeld hoe de bij de karakterisatie gevonden resultaten moeten worden geïnterpreteerd. Het is aannemelijk dat hier bedoeld wordt op afwezigheid van mutaties. De eis dat geen mutaties mogen zijn aangebracht wordt een aantal malen vermeld, en dat doet veronderstellen dat de karakterisering ook doelt op aanwezigheid van onwenselijke mutaties. Dit wordt echter niet expliciet gemaakt.

In advies CGM/070115-01 (Inschaling van handelingen met humane Parechovirussen); worden bij de conclusie aanvullende voorschriften genoemd, maar de redenen voor deze voorschriften worden niet onderbouwd. Aan de andere kant zijn de argumenten genoemd in de onderbouwing zijn niet altijd terug te zien in de conclusie (bijvoorbeeld CGM/081106-01). In de adviezen CGM/060228-02 en CMG/060224-01 (Vaccinontwikkeling voor humane influenza type H5N1) wordt er vanuit gegaan dat de aanvrager een aantal maatregelen zal nemen die echter niet worden vermeld in de aanvullende voorschriften. Ook in het advies CGM/060926-01 (Grootschalige productie van een influenza A vaccin in cellen) wordt in de tekst genoemd dat medewerkers die griepverschijnselen vertonen niet aan de werkzaamheden mogen deelnemen. Deze voorwaarde komt echter niet terug in de conclusie.

Het komt voor dat in een advies aanvullende voorschriften worden genoemd die in de praktijk al onderdeel uitmaken van de voorschriften als gesteld in bijlage 4 van de Regeling (zie Appendix A). Een voorbeeld is de eis dat open handelingen moeten worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet klasse II. De eis dat werkzaamheden waarbij aerosolen kunnen ontstaan worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet klasse II wordt in de Regeling gesteld



zowel onder ML-II als onder ML-III; met deze werkzaamheden worden ook alle open handelingen bedoeld.

4.3 Consistentie tussen adviezen

Over het algemeen zijn de conclusies tussen soortgelijke adviezen consistent. De verwijzing naar eerdere adviezen over een zelfde onderwerp vindt, voor zover kan worden nagegaan, systematisch plaats en de argumenten en voorwaarden uit eerdere adviezen worden consistent herhaald.

In grote lijnen volgen de risicoanalyses die worden gemaakt in de adviezen over de verslagperiode het zelfde stramien. Er zijn daarbij geen aanwijzingen gevonden dat er veranderingen zijn opgetreden in de aanpak van de risicoanalyse of in de criteria die worden gehanteerd, of in de manier waarop de criteria worden geïnterpreteerd.

Een meer gedetailleerde beoordeling van de consistentie op onderdelen van de adviezen is lastiger omdat detailverschillen kunnen berusten op inhoudelijke verschillen tussen de wetenschappelijke overwegingen, die voor verschillende virussen anders kunnen zijn. Een prudent oordeel over consistentie tussen adviezen kan daarom het beste worden gegeven aan de hand van een vergelijking tussen adviezen die eenzelfde virus betreffen. Een dergelijke vergelijking kan worden gemaakt voor *Influenza A* virus, waarover binnen de verslagperiode een groot aantal adviezen is uitgebracht. Een vergelijking van de opgelegde aanvullende voorschriften in deze adviezen, die wordt gegeven in het kader hieronder, is illustratief.

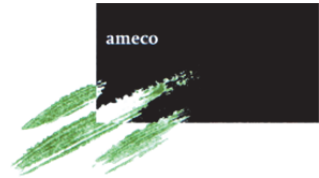
Een ander voorbeeld is CGM/120625-01 (Klinische studie met gg Modified vaccinia virus Ankara vaccin dat codeert voor het Hemagglutinine van *Influenza A* virus), waar verschil is tussen de mate van detail van de aanvullende voorschriften die daar worden gegeven en die in advies CGM/061012-01 over gg MVA worden gegeven.

Nog een voorbeeld is advies CGM/090227-03 (Inschaling van werkzaamheden met recombinante humane coronavirussen), waarin de werkzaamheden worden ingeschaald op ML-III inschalingsniveau. Opmerkelijk is dat in een eerder advies is gesteld dat humane coronavirussen kunnen worden gehanteerd op ML-II met aanvullende voorschriften (open handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse 2 uitgevoerd te worden; het dragen van handschoenen tot over de mouw van de jas is verplicht). Het feit dat er bij inschaling op ML-III geen aanvullende voorschriften nodig zijn zou hier tenminste moeten worden uitgelegd.

Consistentie tussen adviezen:

Aanvullende voorschriften voor handelingen met *Influenza A* virus.

Binnen de verslagperiode heeft de COGEM een groot aantal adviezen gepubliceerd over *Influenza A* virus (zie ook het kader op pagina 28). De inschaling van handelingen met *Influenza A* virus wordt bepaald door de vraag of het gaat om hoog of laag pathogene stammen. De inschaling is dan respectievelijk ML-III/DM-III en ML-II/DM-II. Daarbij worden in alle gevallen aanvullende voorschriften gesteld.



In advies CGM/040518-02 wordt een lijst met aanvullende voorschriften gegeven, waarin in de daarop volgende adviezen enige wijzingen worden aangebracht.

- Aanvullende voorschriften voor laboratoriumwerkzaamheden onder ML-III:
 - medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan *Influenza A* virus
 - medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden
 - alle handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden
 - in CGM/050201-01 wordt toegevoegd: het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht
 - het dragen van een mondkapje van model N95 of hogere specificatie én beschermende bril is verplicht. *Opmerking:* Voor grootschalige handelingen onder MI-III (CGM/060926-01) wordt echter gesteld dat bij gebruik van een VK een dergelijke bescherming niet nodig is, behalve als met H7N7 wordt gewerkt, vanwege de mogelijkheid voor aërogene verspreiding.

In CGM/060224-01 worden deze voorschriften ook gesteld voor ML-II; er worden twee voorschriften toegevoegd, die geen werkvoorschriften zijn:

- heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd
- voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten geldt dat de aanwezigheid van een basische klievingsplaats is uitgesloten.
- Voor handelingen met proefdieren onder DM-III gelden dezelfde aanvullende voorschriften, met als toevoeging:
 - (naast het dragen van een mondkapje is) het innemen van antivirale middelen twee dagen voor aanvang van de studie tot vijf dagen daarna verplicht, óf tijdens de werkzaamheden wordt een volledig gezichtbeschermend persluchtmasker gedragen;
 - bij het verlaten van de onderzoeksruimten wordt gedoucht. *Opmerking:* Dit voorschrift komt niet terug in volgende adviezen, en wordt in geen van de adviezen gesteld, uitgezonderd CGM/070626-03 waar het in de tekst wordt vermeld als een maatregel die genomen wordt. In het algemene advies CGM/060420-04 wordt de aanwezigheid van een douche alleen vermeld bij experimenten met pathogenen van klasse 4.

In CGM/050201-01 worden aanvullende voorschriften gegeven voor infectie van geëmbryoneerde kippeneieren:

- de geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed
- de dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd. *Opmerking:* in advies CGM/060329-02 worden deze voorschriften aangepast, vermoedelijk omdat de situatie hier anders is dan in CGM/050201-01. De voorschriften luiden dan: de geïnfecteerde eieren worden in een rooster geplaatst en in stalen stellingen met lekdichte bodemplaten in een stoof geïncubeerd.

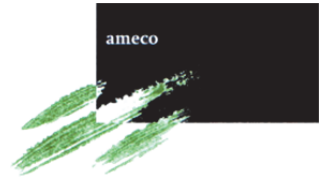
In CGM/060228-02 worden de aanvullende voorschriften die onder ML-II gelden (CGM/050201-01) door Bureau GGO 'vertaald' naar de MI-III situatie; als voorwaarde wordt genoemd de afwezigheid van een polybasische klievingssite, niet de volledige karakterisatie. Hier wordt de aanvullende eis toegevoegd:

- een ventilatiesysteem is aanwezig waardoor in de werkruimte onderdruk ontstaat ten opzichte van de heersende atmosferische druk. In het onafhankelijke luchtafvoerkanaal is een HEPA filter aangebracht.

In CGM/060329-02 worden deze voorschriften voor MI-III door BGGO verder uitgebreid; deze voorschriften zijn ook afdoende voor een MI-II ruimte waarin het ventilatiesysteem voldoet aan de gestelde voorwaarden.

De voorschriften gaan aanzienlijk verder dan de voorschriften die in bijlage 5 van de Regeling worden gesteld voor MI-III. De voorschriften zijn door de aanvrager voorgesteld, maar dat wordt in de conclusies niet duidelijk gesteld:

Inrichtingsvoorschriften:



- een ventilatiesysteem is aanwezig. De productieruimte en sluis worden omringd door een schil met onderdruk ten opzichte van de heersende atmosferische druk. De luchtafvoer vanuit de productieruimte en schil is een onafhankelijk kanaal waarin een HEPA filter is aangebracht;

Werkvoorschriften:

- het dragen van volledig beschermende kleding, een haarkapje, een mond- en neuskapje (N-95 of hogere specificatie) en een beschermende bril is verplicht ('volledig beschermende kleding' en 'een haarkapje' zijn aanvullingen ten opzichte van eerdere werkvoorschriften);

Overige aanvullende voorschriften:

- de backbone van de te vervaardigen gg influenza A virussen bestaat uit minimaal 6 genoomsegmenten die afkomstig zijn van A/PR/8/34 (een dergelijke eis werd eerder wel vermeld, maar niet als voorschrift opgenomen);
- heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd;
- voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten geldt dat de aanwezigheid van een basische klievingsplaats is uitgesloten.

In CGM/061214-01 stelt de COGEM dat het mogelijk is om deze voorschriften te harmoniseren zonder dat de veiligheid voor mens en milieu in het geding komt:

Bij werkzaamheden met gg-influenzavirussen op ML-III niveau zijn de volgende aanvullende voorschriften van toepassing:

- open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II;
- medewerkers dienen gevaccineerd te zijn;
- medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden;
- het dragen van handschoenen is verplicht;
- bij werkzaamheden met H7 gg-influenzavirussen is een beschermende bril verplicht
- het dragen van een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) is verplicht.

Werkzaamheden met gg influenzavirussen die gebaseerd zijn op sterk verzwakte influenzavirussen kunnen onder ML-II niveau plaatsvinden. De COGEM acht hierbij de volgende aanvullende voorschriften van toepassing:

- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II;
- 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 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn.

De voorwaarden waaronder onder ML-II kan worden gewerkt worden in CGM/100830-02 scherper geformuleerd:

- de gg influenza A virussen bestaan uit minimaal zes genoomsegmenten afkomstig van een niet-virulente verzwakte laboratoriumstam in combinatie met één of twee genoomsegmenten van andere influenzavirussen,
- de heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd,
- voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten geldt dat de aanwezigheid van een polybasische klievingsplaats is uitgesloten.

In dit advies wordt alleen gesproken over laboratoriumhandelingen. Dat wordt rechtgezet in het advies CGM/070328-01, waar voorschriften worden gegeven voor het houden van proefdieren, onder DM-II:

- Dieren worden gehuisvest in filtertopkooien.
- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II.
- Het dragen van handschoenen is verplicht.
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de

werkzaamheden.

- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen. Dit is de enige keer dat het vaccinatievoorschrift volledig wordt gesteld.

In de aanvullende voorschriften zien we een duidelijke lijn, maar de redenen en achtergronden van verschillen zijn niet altijd te achterhalen. In enkele gevallen sluiten de voorschriften aan bij voorschriften die door de aanvrager of door de vergunningverlener zijn voorgesteld.

Het opstellen van geharmoniseerde voorschriften waarnaar in adviezen wordt verwezen en die steeds ook worden geciteerd is een goed middel om de consistentie te bewaken. Het stellen van ad hoc voorschriften, aansluitend bij de situatie die geldt bij een aanvrager, is een mogelijkheid, maar dat zou steeds duidelijk als zodanig moeten worden benoemd.

5 Conclusies en aanbevelingen

5.1 Conclusies

Bij de uitvoering van de consistentiecheck van de adviezen over chimere virussen die zijn uitgebracht binnen de verslagperiode zijn geen fundamentele verschuivingen geconstateerd in de elementen die een rol spelen bij de advisering of in de aard van de beoordeling. Dat blijkt ook uit het feit dat de consistentie van verschillende aspecten van de risicoanalyse in de adviezen zoals vermeld in tabel 2 tenminste voldoende scoort. Ook zijn tussen vergelijkbare adviezen geen fundamentele verschuivingen opgemerkt.

Wel is er sprake van voortschrijdend inzicht in de advisering, dat met name zichtbaar is bij de adviezen over het *Influenza A* virus. Over dit virus zijn meerdere adviezen uitgebracht gedurende een groot deel van de verslagperiode, waarbij een intensieve discussie heeft plaatsgevonden over de inschaling en over de noodzakelijke veiligheidsvoorschriften. In die adviezen zijn veranderingen in de toepassing van de regels van de risicoanalyse dan ook niet aan te merken als inconsistenties.

Samengevat kunnen volgende punten met betrekking tot consistentie binnen de adviezen worden geconcludeerd:

Opbouw van de adviezen:

- In de huidige stijl waarin de adviezen zijn opgesteld lopen algemeen bekende gegevens, nieuwe gegevens uit de literatuur, gegevens aangeleverd door de aanvrager, door Bureau GGO en vanuit de leden van de COGEM ('expert judgement') door elkaar heen. Er wordt niet altijd aangegeven welke argumenten doorslaggevend waren voor het opstellen van de conclusie van het advies.

Consistentie binnen de adviezen:

- De consistentie binnen de adviezen uitgebracht in de jaren 2004-2014 scoort op de verschillende onderdelen goed tot voldoende.
- In de beschrijving van het ggo kan een verbetering worden gemaakt vooral bij de beschrijving van de functies van de donorgenen van het chimere virus en van hun genproducten.
- De elementen die van belang zijn bij de onderbouwing van de adviezen, effecten op tropisme, pathogeniteit en verspreiding van het gg virus scoren voldoende. Maar met name de elementen tropisme en verspreiding, worden niet altijd of soms slechts terloops genoemd. Er kan niet altijd uit de adviezen worden opgemaakt wat daar de reden van is.
- De behandeling van het element pathogeniteit scoort goed. De vuistregel over het verband tussen de pathogeniteitsklasse van de gebruikte virussen en het daarmee samenhangende inschalingsniveau wordt in de meeste gevallen consequent gevolgd. Waar er aanleiding is voor twijfel over de pathogeniteit van een gg virus wordt een inschaling verhoogd; de reden daarvoor wordt niet expliciet genoemd.



- Wat betreft de conclusies wordt de consistentie van de inschaling als goed gescoord. Wel ontbreken er soms elementen in de conclusie terwijl deze elementen wel te vinden zijn in de onderbouwing eerder in het advies
- Voor de aanvullende voorschriften wordt niet altijd een duidelijke onderbouwing gegeven en soms worden aanvullende voorschriften genoemd die in de praktijk al deel uit maken van Bijlage 4 van de Regeling (zie Appendix A).

Consistentie tussen de adviezen

- Er wordt, voor zover kan worden nagegaan, consistent verwezen naar eerdere adviezen van de COGEM over vergelijkbare casussen.
- Conclusies uit eerdere adviezen worden overgenomen, maar daarbij vindt regelmatig een nuancering plaats waarvan de reden niet altijd wordt onderbouwd. Dit geldt met name voor de aanvullende voorschriften.
- Tussen de adviezen zijn er soms verschillen tussen de aanvullende voorschriften die in vergelijkbare gevallen worden opgelegd, zonder dat deze verschillen worden verklaard.

In het algemeen geldt dat de ‘verhalende’ stijl van de adviezen maakt dat de weg die de argumentatie volgt per advies verschilt, waarschijnlijk afhankelijk van de aard van de discussies die gevoerd zijn bij het opstellen van het advies. De nadruk ligt hierbij vaak op specifieke punten die in de discussie naar voren kwamen.

Bij de consistentie tussen de adviezen valt op dat de consistentie van teksten die worden herhaald in de adviezen niet volledig is.

De aanvullende voorschriften vertonen nu vaak kleine verschillen in formulering tussen de adviezen en het is niet altijd duidelijk wat de redenen voor deze verschillen zijn. Het hanteren van standaardteksten, al dan niet als aanvulling op de algemene voorschriften die zijn vastgesteld in Bijlage 4 van de Regeling, kan daarom aan te raden zijn.

Iets vergelijkbaars geldt voor gevallen waarbij eenzelfde uitgangsvirus in meerdere adviezen aan de orde komt en waarbij kan worden verwacht dat de algemene informatie over het uitgangsvirus die nodig is voor de risicoanalyse in grote lijnen steeds hetzelfde zal zijn. Soms zijn er echter (kleine) verschillen, bijvoorbeeld door voortschrijdend inzicht, die van belang zijn voor de risicoanalyse.

5.2 Aanbevelingen

De hierboven geconstateerde gebreken van de adviezen kunnen deels worden verklaard door kenmerken die inherent zijn aan het adviseringsproces. De advisering door de COGEM staat in het overgrote deel van de gevallen ten dienste van de vergunningverlening. Een vergunning moet binnen een wettelijk bepaalde tijd worden afgegeven, die onafhankelijk is van de complexiteit van de adviesvraag. Van adviesvragen over chimere virussen kan worden verwacht dat deze complex zullen zijn. Bij de beoordeling van chimere virussen gaat het veelal om combinaties van onderdelen van virussen die niet eerder zijn gezien en waarover nog weinig empirische kennis beschikbaar is. Dat betekent dat er bij de totstandkoming van de

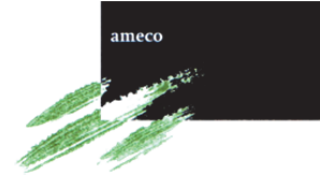
adviezen over chimere virussen plaatsvindt moet worden gebalanceerd tussen de snelheid die wordt vereist door de wettelijke tijdsdruk en de zorgvuldigheid van de afwegingen die moeten worden gemaakt, die tijd kosten doordat ze voor een belangrijk deel berusten op expert judgement, waarbij tijd voor discussies nodig is om subjectiviteit van de oordelen zoveel mogelijk te voorkomen. De volgende aanbevelingen, die berusten op de overwegingen die in de vorige paragraaf zijn uiteengezet kunnen helpen om in deze situatie de consistentie te bewaken.

- De stijl van de adviezen zou in een strakker format gegoten kunnen worden. In het kader van dit rapport wordt in de volgende paragraaf nader ingegaan op een format voor de risicoanalyse van chimere virussen.
- De algemene informatie die wordt verstrekt over een bepaald(e) virus(groep) zou kunnen worden gestandaardiseerd voor wat betreft die informatie die steeds weer nodig is in het kader van de risicoanalyse van het virus. Dergelijke verschillen zouden beter tot hun recht komen als er voor een specifieke virusgroep één 'standaardtekst' wordt gebruikt voor de algemene gegevens die in principe ongewijzigd blijft. In deze tekst kunnen, beargumenteerd, wijzigingen worden aangebracht op grond van voortschrijdend inzicht, of er kunnen toevoegingen worden gedaan die specifiek zijn voor het geval en die niet leiden tot aanpassing van de standaardtekst.
- De formulering van aanvullende voorschriften zou op vergelijkbare wijze kunnen worden gestandaardiseerd. Aanvullende voorschriften (bij ingeperkt gebruik) zouden zoveel mogelijk uniform moeten zijn en uitsluitend aanvullingen moeten bevatten op de voorschriften die in de Regeling worden gegeven. Eventuele ad hoc aanvullingen moeten worden beargumenteerd.
- In gevallen waarin een adviesvraag meerdere onderdelen heeft, bijvoorbeeld de indeling van een virus(groep) in een pathogeniteitsklasse en daarnaast de inschaling van handelingen met een van dat virus afgeleid gg virus, zou het aanbeveling verdienen om deze vragen geheel los van elkaar te behandelen in verschillende onderdelen van het advies, die ieder een volledige behandeling van de betreffende vraagstelling geven.

Tenslotte verdient het aanbeveling als er, onder meer als hulp voor aanvragers, één generiek advies komt waarin de COGEM duidelijk maakt hoe de commissie omgaat met risicoanalyse en advisering over chimere virussen. Hieruit kan worden afgeleid hoe de risicoanalyse van chimere virussen in een aanvraag moet worden uitgevoerd en onderbouwd. Dit is ook in het belang van het maken van een correcte afweging welke procedure, "ML-II-k" dan wel "ML-II-v", moet worden gevolgd bij de administratieve afhandeling van werkzaamheden met chimere virussen.

5.3 Voorstel gestandaardiseerd format

Hierboven is geconstateerd dat het gebruik van een gestandaardiseerd format bij het opstellen van de adviezen kan helpen om inconsistenties te voorkomen. De presentatie van de adviezen volgt nu wel al globaal een zelfde volgorde die de argumentatie van de risicoanalyse volgt. Een meer gestandaardiseerd format zou helpen om de informatie en argumentatie die bij de beantwoording van de deelvragen wordt gebruikt verder te structureren. Een belangrijk



deel van de inconsistentie zit nu in het ontbreken van argumentatie over deelvragen van de risicoanalyse, zoals vragen over het tropisme en de verspreidingskarakteristieken van het chimere virus. Een gestandaardiseerd format dwingt om dergelijke vragen af te handelen en bijvoorbeeld ook te vermelden als en waarom ze in de discussie van ondergeschikt belang worden geacht.

Gestandaardiseerd format voor de behandeling van adviesvragen

1. De adviesvraag.
 - De aanleiding voor de adviesvraag, zoals bijvoorbeeld een bij de overheid ingediende vergunningaanvraag of een vraag van de overheid zelf.
 - Administratieve aspecten van de adviesvraag; betreft het introductie in het milieu (een klinische studie) of ingeperkt gebruik van het gg virus.
 - Korte beschrijving van het gg virus en onderbouwing waarom het gaat om een chimeer virus.
 - Opsomming van eerdere adviezen die een zelfde of een vergelijkbare casus betreffen, dan wel een opmerking dat niet eerder een soortgelijk advies is uitgebracht.
2. Beschrijving van de aard van de voorgenomen werkzaamheden.
 - Bijvoorbeeld: constructie van het gg virus, toepassing in laboratoriumonderzoek, toepassing op proefdieren, (grootschalige) productie, klinische studie.
 - Waar relevant, bijvoorbeeld bij productie en klinische studies, de omvang van de voorziene handelingen.
3. Beschrijving van het gg virus.
 - Beschrijving van het uitgangsvirus. Hierbij kan bijvoorbeeld worden verwezen naar een elders beschikbare, door de COGEM opgestelde of goedgekeurde tekst. De beschrijving moet ingaan op alle gegevens over de biologie van het uitgangsvirus die relevant zijn voor de risicoanalyse, zoals pathogeniteit, gastheerbereik en verspreiding.
 - Beschrijving van de donorsequenties. Ook hier zou eventueel kunnen worden verwezen naar eerder door de COGEM gepubliceerde of gebruikte teksten. De beschrijving moet ingaan op de rol van de genproducten van de donorgenen in de biologie van de donor.
4. Beschrijving van de mogelijke of experimenteel aangetoonde interacties tussen het uitgangsvirus en de donorgenen en de effecten die daaruit voort kunnen vloeien. Deze beschrijving gaat in ieder geval in op effecten op:
 - a. het tropisme en gastheerbereik van het gg virus;
 - b. de pathogeniteit van het gg virus
 - c. de verspreidingskarakteristieken van het gg virus.Hier moet echter ook rekening worden gehouden met andere factoren in de interacties die een effect kunnen hebben op het tropisme, de pathogeniteit en de verspreidingskarakteristieken. Hiervoor verwijzen wij kortheidshalve naar de factoren genoemd in deel B van Figuur 1.

Onder dit punt kunnen ook overwegingen worden genoemd die in eerdere adviezen (genoemd onder punt 1) naar voren zijn gekomen. Als geen gebruik wordt gemaakt



van eerdere adviezen of daarvan wordt afgeweken, moet dat hier worden vermeld en beargumenteerd.

5. Conclusie ten aanzien van:

- a. Ingeperkt gebruik: de inschaling van de activiteiten en de eventuele aanvullende voorschriften die in acht moeten worden genomen.
- b. Introductie in het milieu: de omstandigheden waaronder de activiteiten kunnen plaatsvinden, inclusief te nemen veiligheidsmaatregelen, zonder dat daarvan nadelige voor mens en milieu te verwachten zijn.

Indien voor vergelijkbare gevallen al eerder aanvullende voorschriften zijn gesteld dan zou daarnaar verwezen moeten worden. Afwijkingen van de tekst van eerder geformuleerde voorschriften kunnen het best worden voorkomen, of moeten, als ze noodzakelijk zijn, worden beargumenteerd.

Het hier beschreven format is toegespitst op de risicoanalyse van chimere virussen, omdat deze het onderwerp zijn van dit rapport. Een vergelijkbaar format zou echter ook gevolgd kunnen worden in risicoanalyses van andere gg virussen. Het hier voorgestelde format wordt uitdrukkelijk gepresenteerd als een voorbeeld en als een uitnodiging voor verdere discussie.

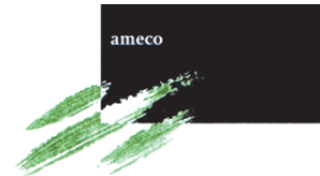


Referenties

- [1] EU Directive 2001/18/EC (2001) Official Journal of the European Communities, 17.04.2001 L 106/1
http://eur-lex.europa.eu/resource.html?uri=cellar:303dd4fa-07a8-4d20-86a8-0baaf0518d22.0004.02/DOC_1&format=PDF
- [2] Ben P.H. Peeters (2005) Recombinant and chimeric viruses: Evaluation of risks associated with changes in tropism. Animal Sciences Group, Wageningen University and Research Centre, Division of Infectious Diseases, The Netherlands,
<http://www.cogem.net/index.cfm/en/publications/publicatie/recombinant-and-chimeric-viruses>
- [3] Erik van den Akker (2008) Environmental risk assessment of replication competent viral vectors in gene therapy trials. RIVM Report 601850001/2008
http://www.rivm.nl/dsresource?objectid=rivmp:16101&type=org&disposition=inline&ns_nc=1
- [4] W. van Haren en W.J.M. Spaan (2001) Methodiek ter beoordeling van virale sequenties. Rapportage uitgevoerd in opdracht van het Ministerie van VROM, op voordracht van de Commissie Genetische Modificatie. (Niet openbaar beschikbaar)

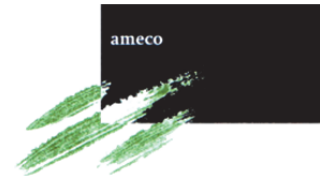
DEEL 2

Overzicht van de COGEM adviezen over chimere virussen in de verslagperiode



Tabel 3. Chronologisch overzicht van de adviezen over chimere virussen binnen de verslagperiode

Advies	Nr.	Blz.
12.02.2004 Constructie en productie van alphavirusvectoren (CGM/040212-02)	5	59
31.03.2004 Inschaling van Influenza A virusstammen (CGM/040326-03)	25	73
21.05.2004 Recombinante virussen samengesteld met behulp van 'reverse genetics' uit hoog- en laag pathogene aviaire Influenza A virussen (CGM/040518-02)	26	74
09.08.2004 Pathogeniteitsstudies met hoog- en laagpathogene influenza A virussen (CGM/040809-01)	27	75
28.09.2004 Veldproef naar de werking van een genetisch gemodificeerd vaccin tegen <i>Feline immunodeficiency virus</i> (FIV) infectie bij katten (CGM/040928-03)	18	69
01.02.2005 Pathogeniteitstudies met recombinante Influenza A virussen (CGM/050201-01)	28	76
15.06.2005 Pseudo-infectieuze virusdeeltjes; een modelsysteem voor het bestuderen van infectieprocessen van flavivirussen (CGM/050615-01)	13	65
24.02.2006 Vaccinontwikkeling voor humane influenza type H5N1 (CGM/060224-01)	29	77
28.02.2006 Grootschalige productie van influenza vaccins (CGM/060228-02)	30	77
14.03.2006 Vaccinatie van apen met recombinante chimere alphavirusvectoren ten behoeve van vaccinonderzoek (CGM/060314-01)	6	59
29.03.2006 Omlaagschaling van de commerciële productie van influenza vaccin (CGM/060329-02)	31	78
11.07.2006 Inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerd <i>Mond-en-klauwzeervirus</i> (CGM/060711-01)	46	90
24.07.2006 Handelingen met een laag pathogene H5N1 influenza stam en serologisch onderzoek (CGM/060724-04)	32	79
26.09.2006 Grootschalige productie van een influenza A vaccin in cellen (CGM/060926-01)	33	80
12.10.2006 Fase I klinische studie met een genetisch gemodificeerd MVA virus gericht tegen HIV-B (CGM/061012-01)	51	93
24.10.2006 Grootschalige productie van een influenza A vaccin in eieren (CGM/061024-01)	34	18
14.12.2006 Aanvullende voorschriften bij werkzaamheden met genetisch gemodificeerde influenza A virussen (CGM/061214-01)	35	81
18.12.2006 Handelingen met een recombinant H7N7 influenzavirus (CGM/061218-01)	36	82
15.01.2007 Inschaling van handelingen met humane Parechovirussen (CGM/070115-01)	24	72
22.02.2007 Grootschalige productie van een influenza A vaccin in eieren (CGM/070222-03)	37	83
28.03.2007 Aanvullende voorschriften bij handelingen met genetisch gemodificeerde influenza A virussen (CGM/070328-01)	38	83
15.05.2007 Pathogenese en transmissie van influenzavirussen (CGM/070515-01)	39	84
26.06.2007 Inschaling werkzaamheden met genetisch gemodificeerd <i>Hog cholera virus</i> (varkenspestvirus) en <i>Bovine viral diarrhea virus</i> (CGM/070626-03)	10	62
21.07.2008 Inschaling van werkzaamheden met NYVAC-C mutanten (CGM/080721-03)	54	96
23.09.2008 Voorstellen voor de de-regulering Besluit GGO (CGM/080923-01)	1	56
06.11.2008 Advies fase II klinische studie met een NYVAC-B vaccin (CGM/081106-01)	55	96
07.11.2008 Aanvullend advies de-regulerings voorstellen (CGM/081107-01)	2	65
19.01.2009 Inschaling werkzaamheden met flavivirussen CFA en YokV (CGM/090119-04)	14	66
27.02.2009 Inschaling van werkzaamheden met recombinante humane coronavirussen (CGM/090227-03)	11	64
24.11.2009 Onderzoek aan humaan metapneumovirus (CGM/091124-04)	23	71
07.07.2010 Classificatie van <i>Hepatitis delta virus</i> en inschaling werkzaamheden genetisch	17	68



gemodificeerde HDV deeltjes (CGM/100707-01)		
12.07.2010 Classificatie en inschaling werkzaamheden met recombinante Orbivirussen (CGM/100712-05)	47	90
30.08.2010 Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde influenza A/Udorn/307/72 (CGM/100830-02)	40	84
09.11.2010 Classificatie van drie Lyssavirussen (CGM/101109-03)	44	87
22.03.2011 Inschaling werkzaamheden genetische gemodificeerd Rift Valley fever virus (RVFV) (CGM/110322-01)	49	92
15.08.2011 Classificatie van Vesicular stomatitis virus en inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde VSV deeltjes (CGM/110815-03)	56	97
21.09.2011 Inschaling werkzaamheden recombinant aviair Influenza A virus H7N1 (CGM/110921-01)	41	85
23.11.2011 Reactie op ontwerpbesluit ggo milieubeheer 2012 (CGM/111123-01)	3	56
22.12.2011 Klinische studie met een Semliki forest virus vaccin tegen baarmoederhalskanker (CGM/111222-02)	7	60
04.01.2012 Werkzaamheden met chimeer Infectious bronchitis virus (CGM/120104-01)	12	64
25.01.2012 Classificatie van Canine parvovirus (CGM/120125-01)	9	62
07.02.2012 Ingeperkt gebruik van herpesvirusvaccins in lama's (CGM/120207-02)	19	69
17.04.2012 Inschaling van onderzoek naar Ebolavirus en Marburgvirus infecties met genetisch gemodificeerd VSIV (CGM/120417-02)	57	98
11.06.2012 Introductie in het milieu van een recombinant herpesvirusvaccin tegen laryngotracheitis en de ziekte van Marek (CGM/120611-01)	20	70
25.06.2012 Klinische studie met genetisch gemodificeerd Modified vaccinia virus Ankara vaccin dat codeert voor het Hemagglutinine van Influenza A virus (CGM/120625-01)	52	94
16.07.2012 Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd Rift Valley fever virus (CGM/120716-02)	50	82
13.08.2012 Evaluatie van een recombinant Yellow Fever virus vaccin (CGM/070724-01)	15	67
14.08.2012 Advies Grootschalige productie van antigeen tegen West Nile virus op MI-III niveau (CGM/120814-02)	16	68
29.08.2012 Inschaling werkzaamheden met gg-Schmallenbergvirus (CGM/120829-02)	8	61
28.09.2012 Aanvullende informatie klinische studie met gg-MVA-HA vaccin (CGM/120928-01)	53	95
06.12.2012 Productie van gg-Measles virus met heterologe oppervlakte-eiwitten (CGM/121206-01)	45	88
23.01.2013 Aanvullende informatie Innovax ILT en MD (CGM/120718-01)	21	71
23.01.2013 Moleculaire karakterisering Innovax (CGM/121024-01)	22	71
25.04.2013 Reassortanten van Influenza B virus (CGM/130424-01)	43	86
30.05.2013 Productie van genetisch gemodificeerde Influenza A/HK/1/68 (HKMA20-C) virussen (CGM/130530-01)	42	85
04.04.2014 Uitwisseling van de oppervlakte eiwitten tussen aviaire en paramyxovirussen (CGM/140404-01)	48	91
07.07.2014 Replicatiedefectieve adenovirale vector met het complete genoom van Hepatitis B virus (CGM/140707-01)	4	57

Algemeen advies ten aanzien van chimere virussen

1. [CGM/080923-01](#) (2008-09-23)

Voorstellen voor de-regulering Besluit GGO

2. [CGM/081107-01](#) (2008-11-10)

Aanvullend advies de-regulerings voorstellen

Betreft: Aanbevelingen over de experimentgebonden vergunningplicht; opmerking over chimere virussen.

Conclusies:

- Als werkzaamheden waarvoor vastgehouden moet worden aan een experimentgebonden vergunningsplicht worden onder andere genoemd activiteiten met chimere pathogenen in de breedste zin van het woord.
- Dit is van toepassing indien het activiteiten betreft met een chimeer virus dat opgebouwd is uit onderdelen van verschillende pathogenen en waarvan de pathogeniteit onduidelijk is.
- Dit laatste acht de COGEM het geval als het chimere virus is opgebouwd uit virussen behorend tot een genus die zowel species van pathogeniteitsklasse 2 als van klasse 3 bevat.
- De COGEM voegt daar aan toe dat er alleen een experimentgebonden vergunningsplicht zou moeten gelden indien het biologisch niet-ingeperkte systemen betreft.

Opmerkingen:

Deze aanbevelingen gelden in de toekomst af te geven vergunningen, en daarom ook in de toekomst af te geven adviezen. Ze hebben daarom nog geen gevolgen voor de adviezen die in dit rapport worden behandeld, maar hebben wel gevolgen voor de wenselijkheid van consistentie van adviezen over chimere virussen. Zie daarover paragraaf 3.1: 'Belang van consistentie voor aanvragers'.

3. [CGM/111123-01](#) (2011-11-23)

Reactie op ontwerpbesluit ggo milieubeheer 2012

Relevantie: in het ontwerpbesluit wordt in het kader van administratieve lastenverlichting voorgesteld onderscheid te maken tussen inperkingsniveau II-laag en inperkingsniveau II-hoog. COGEM stelt voor het inperkingsniveau II-hoog alleen te gebruiken voor virale vectoren die in combinatie met gastheercellen niet biologisch ingeperkt zijn. Hier vallen chimere virussen onder die zijn samengesteld uit pathogeniteitsklasse 2 virussen waarvan er minimaal één een humaan virus is.

Opmerkingen: deze regel zal worden opgenomen in de nieuwe regelgeving. Het advies verwijst naar de eerdere adviezen CGM/080923-01 en CGM/081107-01.

Adenovirussen

Niet-replicatiecompetente adenovirale vectoren zijn in principe niet meegenomen in de analyse van dit rapport. Adenovirale vectoren worden veel toegepast bij gentherapie. Zij zijn replicatie deficiënt doordat genen van het vroege gebied verwijderd zijn en vervangen door de



gewenste donorgenen. Het resulterende virus kan hierdoor niet zelfstandig repliceren. Door recombinatie met een adenovirus zouden de vroege genen teruggebracht kunnen worden in de virale vector. Een dergelijke recombinatie zal over het algemeen leiden tot terug vorming van het wildtype virus en verlies van de gekloneerde genen. Het is niet uitgesloten dat er een viraal genoom wordt gevormd waarin zowel de vroege genen aanwezig zijn als de donorgenen. De lengte van een dergelijk genoom zal de maximumlengte die ingepakt kan worden in een adenovirale mantel overschrijden. Op basis van deze redenering wordt verwacht dat adenovirale vectoren in het algemeen sterk biologisch zijn ingeperkt.

Toch kan er reden zijn om een chimere adenovirale vector nader in beschouwing te nemen. Het advies CGM/140707-01 wordt in de beschouwing betrokken op grond van de volgende redenering: de risicoanalyse van adenovirale vectoren volgt vanzelfsprekend hetzelfde stramien als de risicoanalyse van ggo's in het algemeen, dus ook die van chimere virussen. Een aspect dat meegenomen moet worden bij de risicoanalyse is de interactie tussen de virale vector en de gekloneerde donorgenen. Het advies CGM/040707-01 betreft een adenovirale vector waarbij het gehele genoom van *Hepatitis B virus* is geïntroduceerd. Hierbij kan door interactie tussen *Hepatitis B virus* en de adenovirale vector een replicatiecompetent virus ontstaan.

4. [CGM/140707-01](#) (2014-07-07)

Replicatiedefectieve adenovirale vector met het complete genoom van *Hepatitis B virus*.

Betreft: experiment waarbij muizen worden geïnfecteerd met een replicatiedefectief adenovirus waarin het genoom van *Hepatitis B virus* (HBV) is geïntroduceerd.

Chimere aspecten: Het begrip chimeer wordt niet genoemd in het advies. De virale vector AdHBV ontstaat doordat de genen coderend voor de eiwitten E1A, E1B en E3 zijn verwijderd uit het adenovirus HAdV-5. Op de plaats van E1A en E1B is vervolgens het genoom van HBV geïntroduceerd.

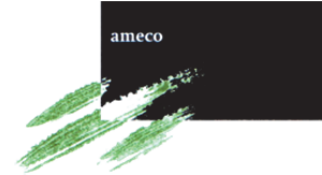
Onderbouwing:

AdHBV is replicatiedefectief. Echter, er wordt gesteld dat niet kan worden uitgesloten dat homologe recombinatie optreedt tijdens de productie van AdHBV in HEK293 cellen. Ook kunnen er replicatiecompetente adenovirussen (RCA) ontstaan die niet langer het genoom van HBV bevatten, maar waarbij door complementatie een AdHBV deeltje geproduceerd kan worden, dat via de lucht kan verspreiden en na infectie HBV kan produceren. Ook andere vormen van recombinatie kunnen volgens de COGEM niet worden uitgesloten.

Bij complementatie van een wild-type adenovirus en AdHBV kan aëroge verspreiding van AdHBV en dus verspreiding van HBV via een alternatieve route via de medewerker mogelijk zijn.

Eén van de argumenten waarom HBV in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld is, is dat HBV niet makkelijk onder de bevolking kan verspreiden. Wanneer infectieuze AdHBV deeltjes via de aëroge route overgedragen kunnen worden, is verspreiding makkelijker.

De COGEM kan niet uitsluiten dat AdHBV kan repliceren in cellen waarin het HBV genoom tot expressie komt, doordat het gen dat codeert voor het X eiwit aanwezig is in het genoom van AdHBV en het X eiwit in HBV dient als een activator van transcriptie.



Conclusies:

De COGEM adviseert de werkzaamheden met AdHDV deeltjes in associatie met kleine proefdieren in te schalen op DM-III inperkingsniveau. En bij deze werkzaamheden dienen de volgende aanvullende voorschriften te worden gehanteerd:

- De dieren worden gehuisvest in filtertopkooien,
- Open handelingen, inclusief het openen van mogelijk besmette filtertopkooien, dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden,
- Het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht.

De COGEM adviseert de in vitro werkzaamheden met cellen en weefsels die afkomstig zijn van met AdHBV geïnfecteerde dieren uit te voeren op ML-III inperkingsniveau onder navolging van de volgende aanvullende voorschriften:

- Open handelingen dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden,
- Het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht.

Voor alle werkzaamheden met AdHBV adviseert de COGEM dat de medewerkers d.m.v. vaccinatie beschermd moeten zijn tegen HBV en dat dit op basis van analyse van HBV-specifieke antistoffen moet zijn vastgesteld.

De COGEM stemt in met omlaagschaling van een deel van de werkzaamheden naar DM-II/ML-II als aan een aantal aanvullende voorwaarden wordt voldaan:

- De dieren worden gehuisvest in filtertopkooien,
- Open handelingen, inclusief het openen van mogelijk besmette filtertopkooien, dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden,
- Het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht,
- Alle medewerkers die in de werkruimte aanwezig zijn tijdens de voorgenomen werkzaamheden zijn gevaccineerd tegen HBV. En op basis van de analyse van HBV-specifieke antistoffen is vastgesteld dat ze voldoende beschermd zijn,
- Er is vastgesteld dat AdHBV niet kan repliceren op humane hepatocyten,
- Middels een gevalideerde en gevoelige test is vastgesteld dat er geen RCA aanwezig is.

De analyse van de cellen en weefsels van dieren die op DM-II gehuisvest zijn, kan op ML-II uitgevoerd worden onder de volgende aanvullende voorschriften:

- Open handelingen dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden,
- Het dragen van handschoenen over de mouw van de werkkleding tijdens de werkzaamheden is verplicht,
- Alle medewerkers die in de werkruimte aanwezig zijn tijdens de voorgenomen werkzaamheden zijn gevaccineerd tegen HBV. En op basis van de analyse van HBV-specifieke antistoffen is vastgesteld dat ze voldoende beschermd zijn.

De flow cytometrie analyse en de histologische analyse met de gefixeerde cellen en weefsels buiten het ML-II laboratorium kunnen plaatsvinden.

Opmerkingen:

Omlaagschaling is toegestaan mits wordt voldaan aan een aantal aanvullende maatregelen. Echter, de aanvullende eis dat moet worden vastgesteld dat AdHBV niet kan repliceren op humane hepatocyten en dat middels een gevalideerde en gevoelige test moet worden vastgesteld dat er geen RCA aanwezig zijn, worden niet herhaald voor de analyse van de cellen en weefsels van dieren.

Voor de omlaagschaling worden verder dezelfde aanvullende eisen gesteld als bij de inschaling.

De eis dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn tegen HBV doet veronderstellen dat er rekening wordt gehouden met het ontstaan van *Hepatitis B virus*. Deze mogelijkheid wordt echter niet in de beschouwingen genoemd. De opmerking dat de verspreiding van HBV niet gemakkelijk plaatsvindt, maar nu wordt vergemakkelijkt doordat het is ingebouwd in een adenovirus, wijst wel in die richting.

Alphavirussen

Binnen de verslagperiode is een advies afgegeven, [CGM/090603-01](#) (2009-06-04), waarin wordt verwezen naar de adviezen CGM/040212-02 en CGM/060314-01, maar waar het verder niet om chimere virussen gaat; dit advies wordt daarom hier buiten beschouwing gelaten.

5. [CGM/040212-02](#) (2004-02-12)

Constructie en productie van alphavirusvectoren.

6. [CGM/060314-01](#) (2006-03-14)

Vaccinatie van apen met recombinante chimere alphavirusvectoren ten behoeve van vaccinonderzoek.

Betreft: De omlaagschaling van de constructie en het gebruik van de beschreven alphavirusvectoren van ML-III naar ML-II, en de omlaagschaling van het gebruik van deze vectoren voor vaccinatie van apen, van DM-III naar DM-II.

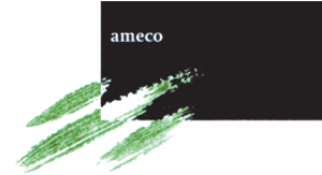
Het construct bevat de genen voor de niet-structurele eiwitten van VEEV en het packaging signaal van SINV. Het construct wordt ingepakt in een SINV virusomhulsel, op basis van expressie van twee helper RNAs die de glycoproteïnen en het capsid eiwit van SINV tot expressie brengen.

Chimere aspecten: Het construct kan op zich repliceren maar kan geen virusdeeltjes vormen en zich ook niet van cel naar cel verspreiden. De vector wordt in het advies 'chimeer' genoemd.

Onderbouwing:

De pathogeniteitsklasse van een chimeer VEEV/SINV virus wordt op 3 gesteld (de hoogste klasse van de twee gecombineerde virussen: VEEV is pathogeniteitsklasse 3, SINV is pathogeniteitsklasse 2). Anderzijds wordt gesteld dat 'de virulentie van VEEV grotendeels wordt bepaald door de structurele eiwitten. In het hier gebruikte VEEV/SINV systeem wordt gebruikt gemaakt van de structurele eiwitten van het veel minder gevaarlijke SINV'.

In een eerdere vergunning is gesteld dat niet uitgesloten kan worden dat een volledig replicatie competent chimeer virus wordt gevormd, dat codeert voor de niet-structurele eiwitten van VEEV en de capsid eiwitten van SINV. Om die reden werden de productie van en handelingen met de vector toen op ML-III ingeschaald.



In (CGM/040212-02) wordt geoordeeld dat het niet eenvoudig is om experimenteel bewijs te geven dat er geen RCV wordt geproduceerd, omdat 'de biologische eigenschappen en het fenotype van de chimere virussen moeilijk voorspelbaar zijn. Het is niet geheel uit te sluiten dat een mogelijk chimeer RCV langzamer repliceert dan beide oudervirussen waardoor het onopgemerkt blijft in de gebruikte RCV test'. In het tweede advies wordt geoordeeld dat de verspreidings eigenschappen van een eventueel RCV vooral zullen berusten op de SINV sequenties; er zal geen aërogene verspreiding plaatsvinden.

Bij de vaccinatie van apen geldt dat de kans op het optreden van aërogene verspreiding van de VEEV/SIN vectoren verwaarloosbaar klein is. Wel moeten de apen getest worden op aanwezigheid van alphavirussen.

Conclusies:

- Op grond van het feit dat het ontstaan van RCV zeer onwaarschijnlijk is, de aard van de werkzaamheden en de verwachting dat het chimere virus geattenuëerd is ten opzichte van de oudervirussen, is de COGEM van mening dat voor de genoemde werkzaamheden (zoals genoemd in beschikking GGO 03096/2, lid 7 en 8) bij omlaagschaling van ML-III naar ML-II de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.
- De werkzaamheden met apen kunnen in een DM-II dierversluit worden uitgevoerd.
- Het nemen van aanvullende maatregelen zoals het dragen van mondkapjes door laboratoriummedewerkers is niet noodzakelijk.
- De te vaccineren apen moeten worden getest op aanwezigheid van alphavirussen.

Opmerkingen:

In het aanvullende voorschrift dat apen getest moeten worden op aanwezigheid van alphavirussen wordt niet gezegd wat er moet gebeuren indien in de test alphavirussen worden aangetoond. De criteria waaraan de test moet voldoen ontbreken.

Er vinden uitgebreide beschouwingen plaats over de mogelijkheid dat RCV wordt gevormd, en wat de verspreidings eigenschappen daarvan zullen zijn. Er worden geen beschouwingen gewijd aan eventuele tropisieveranderingen bij de chimere virussen, maar het is de vraag in hoeverre daar aanleiding toe is.

De conclusie over de omlaagschaling volgt niet duidelijk uit de onderbouwing.

7. [CGM/111222-02](#) (2011-12-22)

Klinische studie met een *Semliki forest virus* vaccin tegen baarmoederhalskanker

Betreft: Klinische studie met vaccin gebaseerd op *Semliki forest virus* (SFV).

Chimere aspecten: in het advies komt de term chimeer niet voor. De vector is gebaseerd op SFV waarbij een fusie van genen van het *Humaan papillomavirus* (HPV) die coderen voor E6 en E7 HPV eiwitten worden geïntroduceerd.

Onderbouwing:

- De kans op vorming van recombinatie competent virus (RCV) tijdens productie proces wordt door COGEM verwaarloosbaar geacht
- Vorming van RCV in patiënt; kans wordt door COGEM verwaarloosbaar klein geacht
- Verspreiding vector in milieu: na eventuele infectie kan het virus zich niet verder verspreiden. De voorgenomen ontsmetting van infectieplaats met 70% alcohol inactieveert virus.



- Transformatie van geïnfecteerde cellen tot kankercellen is onwaarschijnlijk vanwege het RNA karakter van de vector.
- De aanvrager beschrijft dat het celtropisme van het chimere virus niet is veranderd.

Conclusies:

Hoewel de COGEM van mening is dat de (door de aanvrager) berekende kans verwaarloosbaar klein is dat de vectorbatch RCV zal bevatten, acht zij een gevalideerde test op de virusbatches noodzakelijk om dit in de praktijk te bevestigen. Deze onderbouwing ontbreekt in de bij de aanvraag aangeleverde stukken.

Opmerkingen

Geen.

Bunyaviridae

8. [CGM/120829-02](#) (2012-08-29)

Advies: werkzaamheden met gg-Schmallenbergvirus

Betreft: advies over classificatie van het Schmallenbergvirus (SBV) en werkzaamheden met gg Schmallenbergvirus (gg-SBV).

Chimere aspecten: met behulp van 'reverse genetics' worden replicatiecompetente gg-SBV deeltjes vervaardigd. Hiertoe zal gebruik worden gemaakt van het cDNA van de genomsegmenten S, M en L van verschillende SBV isolaten en zo mogelijk van verschillende serotypes.

Onderbouwing:

SBV voldoet deels aan criteria van pathogeniteitsklasse 2 en deels aan die van pathogeniteitsklasse 3. Het virus wordt daarom (voorlopig in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld. Omdat er geen aanwijzing is voor aërogene transmissie of transmissie via fomites, dienen de inperkende maatregelen zich te richten op de transmissie van het SBV via knutten. De kans op besmetting via knutten bij laboratorium werkzaamheden is verwaarloosbaar klein. Deze kunnen daarom op ML-II worden ingeschaald.

Bij werkzaamheden met proefdieren moet rekening worden gehouden met overdracht door de vector. Daarom moeten de proefdieren ofwel worden gehouden in filtertopkooien, ofwel er moet een toegangssluis zijn, wat niet vereist is bij DM-II, wel bij DM-III.

Conclusies:

- *In vitro* werkzaamheden worden ingeschaald op niveau ML-II
- *In vivo* werkzaamheden kunnen, als het gaat om kleine proefdieren, ingeschaald worden op niveau DM-II, met de volgende aanvullende voorwaarden:
 - De dieren worden gehuisvest in filtertopkooien
 - Open handelingen, inclusief het openen van mogelijk besmette filtertopkooien, dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden

Indien bovenstaande aanvullende voorschriften niet gerealiseerd kunnen worden, bijvoorbeeld door de grootte van het proefdier, dienen de werkzaamheden met gg-SBV in associatie met proefdieren ingeschaald worden in DM-III.

Opmerkingen:

Bij de inschaling wordt er niet specifiek op ingegaan of de inschaling van de chimere virussen gelijk is aan die van het uitgangsvirus. De onderbouwing van de te nemen

veiligheidsmaatregelen berust enkel op overwegingen dat verspreiding van het ggo moet worden tegengegaan. Er zijn geen overwegingen over eventuele veranderingen in tropisme of pathogeniteit bij de chimere virussen. Het is echter de vraag in hoeverre daar aanleiding toe is aangezien het gaat om uitwisseling van gensegmenten binnen de soort.

Canine parvovirus

9. [CGM/120125-01](#) (2012-01-25)

Classificatie van Canine parvovirus.

Betreft: Classificatie van het Canine parvovirus (CPV) en werkzaamheden met een gg CPV vaccinstam.

Chimere aspecten:

Het gaat om een vaccinstam van CPV (gg-CPV 630att) waarbij via reassortment het VP2 gen afkomstig uit het CPV-2c isolaat en de geattenueerde backbone van de vaccinstam (CPV 154att) zijn samengevoegd. Het gg virus wordt niet als chimeer benoemd in het advies.

Onderbouwing:

De COGEM classificeert CPV als een klasse 2 dierpathogeen. De aanvrager zal gg-CPV gebruiken dat is samengesteld uit het manteleiwit-gen van een virulent veldisolaat van CPV-2c en de geattenueerde backbone van vaccinstam CPV 154att. In het manteleiwitgen van het CPV-2c veldisolaat zijn mutaties aangebracht die ook in de oorspronkelijke geattenueerde vaccinstam CPV 154att voorkomen. Deze mutaties hebben een verdere attenuering van het virus tot doel. In de ogen van de COGEM zijn er geen aanwijzingen dat het gebruikte gg-CPV een hogere pathogeniteit heeft dan het uitgangsvirus. De aanvrager heeft gegevens aangeleverd waaruit blijkt dat het CPV 630att vaccin veilig is voor Beagle pups afkomstig van ongevaccineerde moeders. Op basis van deze gegevens is de COGEM van mening dat de gg-CPV vaccinstam geattenueerd is.

Conclusies:

- CPV wordt beschouwd als een klasse 2 dierpathogeen.
- De werkzaamheden met gg-CPV 630att kunnen worden ingeschaald op ML-II inperkingsniveau is. Gezien de mogelijke verspreiding via gebruiksvoorwerpen worden de volgende aanvullende voorschriften gesteld:
 - Open handelingen moeten in een veiligheidskabinet worden uitgevoerd
 - Dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht.

Opmerkingen:

Er wordt in het advies gesproken over attenuering door mutaties in het manteleiwit. Het is echter niet duidelijk of de veranderingen in het manteleiwit iets doen met het tropisme.

Classical swine fever virus (CSFV) en Bovine viral diarrhoea virus (BVDV)

10. [CGM/070626-03](#) (2007-06-26)

Inschaling werkzaamheden met gg *Hog cholera virus* (varkenspestvirus) en *Bovine viral diarrhoea virus*.

Betreft: Uit de beschrijving valt op te maken dat de aanvrager gaat werken met chimere virussen bestaande uit een CSFV of BVDV backbone waarin onder meer virale genen van CSFV, BVDV en *Border disease virus* (BDV) worden geplaatst.

Er worden laboratorium experimenten uitgevoerd en experimenten met de virussen in associatie met proefdieren.

Er wordt verwezen naar een eerder advies waarin is besproken dat CSFV, een virus van pathogeniteitsklasse 4, gehanteerd kan worden onder ML-III omstandigheden in de high containment unit van de aanvrager, het CIDC; daarbij zijn aanvullende voorschriften gesteld.

Chimere aspecten: Het begrip 'chimeer virus' lijkt in dit advies ruim te worden opgevat. Er is sprake van 'een breed scala van donorsequenties, te weten (delen en combinaties van) genen van CSFV, BVDV, BDV, hiervan afgeleide mutanten, en niet-gespecificeerde genen afkomstig uit varken en rund waaronder cytokine genen', die aanvrager 'in het BVDV genoom wil plaatsen waardoor chimere virussen ontstaan'.

Onderbouwing:

De overwegingen gaan niet specifiek in op de risicoanalyse van de chimere virussen waarin virale genen zijn geplaatst.

De onderbouwing gaat vooral uitgebreid in op een aantal animale genen, waaronder cytokine genen, die worden ingebouwd in de virussen. Deze virussen worden weliswaar ook 'chimeer' genoemd in dit advies, maar ze zijn hier buiten beschouwing gelaten omdat ze vallen buiten de in dit rapport gestelde definitie voor chimere virussen.

Conclusies:

- De werkzaamheden met infectieus gg-CSFV en BVDV kunnen worden uitgevoerd op ML-III niveau met aanvullende en gewijzigde werk- en inrichtingsvoorschriften zoals vermeld in het inschalingsvoorstel van Bureau GGO;
- Werkzaamheden met infectieus gg CSFV en BVDV in associatie met proefdieren kunnen op DM-III niveau plaatsvinden met inachtneming van aanvullende en gewijzigde werk- en inrichtingsvoorschriften.
- Er wordt vermeld dat bij al deze handelingen aanvullende en gewijzigde maatregelen moeten worden getroffen. Die betreffen onder andere het dragen van maskers (P2 of hogere specificatie) en handschoenen. De voorgestelde maatregelen zijn gebaseerd op de maatregelen genoemd in het COGEM advies CGM/060420-04, 'Classificatie van dierpathogenen', voor het hanteren van proefdieren in associatie met klasse 4 dierpathogenen.

Opmerkingen:

De chimere virussen worden in het advies slechts in globale termen omschreven. Er wordt geen gedetailleerde risicoanalyse gegeven van de chimere virussen waarin virale genen zijn geplaatst.

De inschaling, ML-III en DM-III, berust deels op overwegingen uit een eerder advies, deels op voorstellen van Bureau GGO. Deze overwegingen worden niet volledig weergegeven, waardoor ze in dit advies niet eenvoudig en volledig na te trekken zijn. De aanvullende voorschriften worden niet gespecificeerd.

Coronavirussen

11. [CGM/090227-03](#) (2009-02-27)

Inschaling van werkzaamheden met recombinante humane coronavirussen.

Betreft: In vitro werkzaamheden met humane coronavirussen HCoV-229E en HCoVNL63 en enkele chimere varianten daarvan, waarin het ORF3/4 domein dat codeert voor niet-structurele accessoire eiwitten van beide virussen, wordt uitgewisseld.

Chimere aspecten: Het gaat om uitwisseling van overeenkomstige genen tussen twee humane coronavirussen. De hierbij gevormde virussen worden chimeer genoemd.

Onderbouwing:

Er is eerder een inschaling ML-II afgegeven voor handelingen met humaan CoV, waarbij er ook sprake was van de mogelijkheid van veranderingen van pathogeniteit. Hier wordt nu geargumenteed dat weinig bekend is over de eigenschappen van ORF3/4. Aan de ene kant wordt het onwaarschijnlijk geacht dat de ORFs een rol spelen bij virus-gastheer interacties. Aan de andere kant wordt voor ORF3 van een verwant coronavirus een rol verondersteld in de bepaling van de pathogeniteit.

Op grond van deze overwegingen wordt een inschaling op ML-III gekozen.

Conclusies:

- In dit specifieke geval worden de voorgenomen werkzaamheden met de chimere coronavirussen ingeschaald op ML-III inperkingsniveau.
- Onder navolging van de voor dit niveau geldende voorschriften zijn de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Opmerkingen:

De bewering dat met het hanteren van de geldende voorschriften voor ML-III niveau de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn wordt niet onderbouwd. In een eerder advies is gesteld dat humane coronavirussen kunnen worden gehanteerd op ML-II met aanvullende voorschriften:

- open handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse 2 uitgevoerd te worden;
- het dragen van handschoenen tot over de mouw van de jas is verplicht.

Werkzaamheden met HCoVNL63 worden ingeschaald op ML-II, met een iets gewijzigd aanvullend voorschrift:

- open handelingen dienen in een klasse 2 veiligheidskabinet uitgevoerd te worden;
- het dragen van handschoenen is verplicht.

Het feit dat er bij inschaling op ML-III geen aanvullende voorschriften zijn, zoals het dragen van handschoenen tot over de mouw, zou moeten worden uitgelegd.

In het advies worden de beide virussen HCoV-229E en HCoVNL63 ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De keuze voor de inschaling ML-III berust waarschijnlijk op het voorzichtigheidsprincipe, maar dit wordt niet expliciet gemaakt.

12. [CGM/120104-01](#) (2012-01-04)

Werkzaamheden met chimeer *Infectious bronchitis virus*.

Betreft: doel is om recombinante *Infectious bronchitis virus* (IBV) partikels te maken door regio's of (gedeeltes van) genen van verschillende IBV stammen met elkaar te combineren.



Met deze partikels worden animale cellen, eieren en kippen geïnfecteerd. Met name het spike eiwit zal worden bestudeerd via puntmutaties en uitwisseling van (delen van) het spike gen tussen IBV stammen.

Chimere aspecten: Voor de chimere IBV partikels zal onderling uitwisseling plaatsvinden van genen of domeinen tussen de niet-virulente IBV vaccinstammen H120 en Beaudette en de virulente IBV stammen M41 en B1648. De chimere partikels kunnen structurele en niet-structurele genen of domeinen bevatten van de verschillende IBV stammen. Het virus wordt als chimeer benoemd.

Onderbouwing:

IBV is ingeschaald in pathogeniteitsklasse 2. Het spike-eiwit is de voornaamste maar niet de exclusieve determinant van pathogeniteit en tropisme in IBV. Op basis van eerdere studies stelt de COGEM dat het celtropisme en de pathogeniteit van de chimere IBV virussen kunnen veranderen, maar dat het in deze gevallen steeds ging om virussen die of even virulent waren als één van de uitgangsstammen, of minder virulent dan de uitgangsvirussen. Het combineren van verschillende stammen van IBV zal daarom niet leiden tot een virus met een hogere pathogeniteitsklasse dan de uitgangsstammen.

Conclusies:

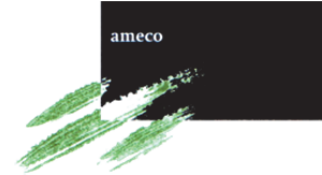
- Werkzaamheden met chimere IBV partikels (in laboratorium in associatie met animale cellen, kippeneieren en kippenweefsel) dienen op ML-II inperkingsniveau plaats te vinden met de volgende aanvullende voorwaarden:
 - het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;
 - open handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse II te worden uitgevoerd;
- Voorschriften specifiek bij de infectie van kippeneieren:
 - de geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed;
 - de dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.
- Handelingen met kippen in associatie met chimere IBV partikels moeten op DM-II niveau worden uitgevoerd. Aanvullende voorschriften:
 - de dieren worden gehuisvest in een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd;
 - na het beëindigen van het experiment worden de dieren geëuthanaseerd.

Opmerkingen:

In de overwegingen worden de mogelijkheden voor verspreiding van het oudervirus slechts globaal genoemd. Op de verspreiding van de chimere virussen wordt niet specifiek ingegaan. De genoemde aanvullende voorschriften werden in de ontwerpbeschikking voorgesteld. De COGEM stemt hiermee een, maar argumentatie ontbreekt.

Flavivirussen

13. [CGM/050615-01](#) (2005-06-01)



Pseudo-infectieuze virusdeeltjes; een modelsysteem voor het bestuderen van infectieprocessen van flavivirussen

Betreft: De vorming van pseudo infectieuze partikels (pips) van YFV of DENV, of van virusdeeltjes waarin combinaties van genen van beide virussen voorkomen.

De pips bevatten door de wijze waarop ze worden geproduceerd in principe alleen de niet-structurele eiwitten van de virussen. Er wordt gebruik gemaakt van met name genoemde geattenueerde vaccinstammen van beide virussen.

Chimere aspecten: Het wordt niet geheel uitgesloten geacht dat er replicatie competente virussen worden gevormd. Deze kunnen, afhankelijk van de opzet van het experiment, chimeer zijn; de term chimeer wordt gebruikt voor deze virussen.

Onderbouwing:

Theoretisch gezien zal slechts het replicon-RNA ingebouwd worden in de pips. Hierdoor kunnen geen replicatiecompetente deeltjes ontstaan. De aanvrager onderbouwt deze stelling met de resultaten van een risicoanalyse uitgevoerd door de Amerikaanse onderzoeksgroep waarvan zij de plasmiden betrekken. Hoewel het aannemelijk is dat bij gebruik van het pip-systeem geen replicatiecompetente virusdeeltjes ontstaan, acht de COGEM, vanwege het niet aanleveren van verifieerbare gegevens, dit niet voldoende onderbouwd. Het voorschrift om werkzaamheden met andere flavivirussen in de tijd te scheiden van werkzaamheden met het pip systeem dient om de kans op recombinatie verder te minimaliseren. Als er chimere replicatie competente virussen worden gevormd dan zal het hier alleen gaan om het nucleocapside eiwit dat van het andere virus afkomstig zal zijn. De COGEM verwacht niet dat dit leidt tot veranderde pathogene eigenschappen.

Conclusies:

- Het gebruik van het pip-systeem kan op ML-II niveau plaatsvinden, vanwege het sterk geattenueerde karakter van de gebruikte vaccinstammen.
- Deze conclusie geldt specifiek het hier beschreven pip systeem.
- Aanvullend voorschriften:
 - De te gebruiken cellen moeten vrij moeten zijn van flavivirussen;
 - Het is niet toegestaan de handelingen met de getransduceerde cellen uit te voeren in een tijdsbestek van minder dan 30 minuten nadat handelingen met een andere flavivirus anders dan de voornoemde vaccinstammenweek in hetzelfde veiligheidskabinet hebben plaatsgevonden.

Opmerkingen:

Over verspreiding wordt gesproken maar niet specifiek over de verspreiding die wordt verwacht voor de ggo's.

Er wordt niet ingegaan op het tropisme van eventueel gevormde RCV

14. [CGM/090119-04](#) (2009-01-19)

Inschaling werkzaamheden met flavivirussen CFA en YokV.

Betreft: Er worden chimere virussen geproduceerd op basis van de YFV-17D stam, een geattenueerde humane vaccinstam van het *Yellow fever virus*. De structurele genen PrM en E van deze stam zullen worden uitgewisseld met de overeenkomstige genen van *Cell fusing agent virus* (CFA) en het *Yokose virus* (YokV). Deze genen coderen voor oppervlakte-eiwitten die een rol spelen bij de immuniteit tegen deze virussen.

Chimere aspecten: Een deel van het advies gaat over de inschaling van chimeren van YFV-17D met structurele genen van CFA en YokV. Dit deel van het advies is hier in beschouwing genomen.

Onderbouwing:

De meeste flavivirussen worden ingeschaald in pathogeniteitsklasse 3, maar de sterk geattenuerde vaccinstam YFV-17D wordt ingeschaald in pathogeniteitsklasse 2. Werkzaamheden met YFV-17D kunnen daarom in principe op ML-II worden ingeschaald. Maar de virussen YFV, CFA en YokV behoren tot dezelfde virusfamilie. Uitwisseling van de structurele PrM en E kunnen mogelijk een verandering in tropisme en replicatie veroorzaken. Er is maar weinig bekend over het mogelijke effect van de insertie van deze oppervlakte-eiwitten. Dat is reden om in te stemmen met een inschaling op ML-III van handelingen met de beschreven chimere virussen; de voor het ML-III niveau geldende voorschriften bieden voldoende bescherming.

Conclusies:

- De COGEM stemt in met het voorstel de voorgenomen werkzaamheden met CFA en YokV in te schalen op ML-III niveau.
- Met het hanteren van de geldende voorschriften voor dit inperkingsniveau zijn de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

Opmerkingen:

Geen.

15. [CGM/070724-01](#) (2012-08-13)

Evaluatie van een recombinant *Yellow fever virus* vaccin

Betreft: Het doel van de studie is de ontwikkeling van een vaccin voor paarden tegen het *West Nile virus* (WNV). Hiervoor wordt een recombinant *Yellow fever virus* vaccin (YFV) met oppervlakte eiwitten van het WNV getest in proefdieren. De aanvrager verzoekt omlaagschaling van de werkzaamheden naar ML-II niveau.

Chimere aspecten: Er wordt gebruik gemaakt van de humane geattenuerde vaccinstam YFV-17D. In deze stam worden de structurele genen prM en E uitgewisseld met de overeenkomstige genen van het WNV. Het YF-WNV virus wordt als chimeer benoemd.

Onderbouwing:

De aanvrager heeft nieuwe gegevens geleverd over genetische stabiliteit, weefsel-tropisme en replicatiekinetiek van het vaccin. De COGEM is van mening dat de aangeleverde gegevens voldoende aantonen dat YF-WNV voldoende geattenuerd is.

Ook concludeert de COGEM dat de kans op verspreiding van YF-WNV via muggen verwaarloosbaar klein is, omdat orale infectie (bedoeld wordt van de muggen) niet succesvol is.

Het YF-WNV vaccin is sinds 2006 geregistreerd bij de APHIS/USDA en toegelaten als levend vaccin in de Verenigde Staten.

Conclusies:

De laboratoriumwerkzaamheden kunnen worden uitgevoerd op ML-II niveau met inachtneming van aanvullende voorschriften:

- dragen van handschoenen
- het uitvoeren van open handelingen in een veiligheidskabinet klasse II.

Opmerkingen:

Geen.

16. [CGM/120814-02](#) (2012-08-14)

Grootschalige productie van antigeen tegen *West Nile virus* op ML-III niveau

Betreft: Werkzaamheden waarbij een gg- *Yellow Fever virus* wordt vermenigvuldigd in speciale kweekflessen (rolflessen) in een MI-III ruimte.

Chimere aspecten: *Yellow Fever virus* dat de oppervlakte-eiwitten (*prM* en *E* genen) van het *West Nile virus* bevat. Het YF-WNF virus wordt als chimeer benoemd.

Onderbouwing:

De laboratoriumwerkzaamheden met de recombinante YF-WNV vaccinstam zijn vergund op ML-II inperkingsniveau (Advies CGM/070724-01). Grootschalige werkzaamheden met de vaccinstam worden ingeschaald op MI-III niveau. Er wordt ingegaan op de voorschriften van het MI-III niveau; er worden geen aanvullende voorschriften gesteld.

Conclusies:

- Werkzaamheden kunnen plaatsvinden op MI-III Niveau

Opmerkingen:

Geen.

Hepatitis delta virus (HDV)**17. [CGM/100707-01](#) (2010-07-07)**

Classificatie van *Hepatitis delta virus* en inschaling werkzaamheden met gg HDV deeltjes.

Betreft: Het advies betreft de vaststelling van de pathogeniteitsklasse van HDV, en de inschaling van werkzaamheden met HDV waarin de oppervlakte eiwitten van *Hepatitis B virus* (HBV) zijn gebracht.

Chimere aspecten: Uit de beschrijving van het ggo kan worden opgemaakt dat het gaat om een gepseudotypeerd virus, maar hier wordt in het advies niet op ingegaan.

Onderbouwing:

HDV is op zich niet replicatie competent, maar wordt hier beschouwd in samenhang met HBV, op basis waarvan HDV kan repliceren. In die zin gaat het hier om een conditioneel replicatie competent chimeer virus.

De indeling van HDV in pathogeniteitsklasse 2 wordt uitgebreid onderbouwd.

Het ggo, HDV met de oppervlakte eiwitten van HBV, wordt slechts beschreven, maar er wordt niet ingegaan op de risicoanalyse van het gebruik van het ggo.

Conclusies:

- Werkzaamheden met gg-HDV moeten op inperkingsniveau ML-II uitgevoerd worden.
- Open handelingen moeten in een veiligheidskabinet klasse 2 uitgevoerd worden.
- Het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is noodzakelijk om te voorkomen dat het virus via eventueel aanwezige wondjes het lichaam kan binnendringen.
- Vaccinatie van werknemers tegen HBV en controle op een afdoende antistof-titer is noodzakelijk.

Opmerkingen:

De beschrijving van het ggo: 'HDV deeltjes die de oppervlakte-eiwitten van HBV tot expressie brengen', is verwarrend, omdat het gaat om twee constructen, een met het HDV genoom en een met de oppervlakte eiwitten van HBV. Hoewel dat niet expliciet wordt gezegd is de indruk dat de gevormde HDV deeltje gepseudotypeerd zijn met HBV oppervlakte eiwitten. In de risicoanalyse wordt niet ingegaan op de specifieke eigenschappen van het ggo.

Herpes Virussen**18. [CGM/040928-03](#) (2004-09-28)**

Veldproef naar de werking van een gg vaccin tegen *Feline immunodeficiency virus* (FIV) infectie bij katten.

Betreft: Vaccins gebaseerd op een FHV waaruit het thymidine kinase gen is gedeleteerd. Op de plaats van de deletie zijn resp. het *gag* en *pol* gen van FIV geïnserteerd. De vaccinstammen zullen worden toegepast op katten, buiten fysieke inperking (veldexperiment).

Chimere aspecten: De gebruikte virussen worden adequaat beschreven. Zij worden 'recombinant virussen' genoemd maar voldoen aan de definitie van chimere virussen.

Onderbouwing:

In een eerder advies is het gebruik van stammen vergelijkbaar met het vaccin ingeschaald op ML-II, op basis van de pathogeniteitsklasse 2 van FHV en FIV; gebruik in associatie met katten is ingeschaald op DM-II. In dit advies gaat het om introductie in het milieu, en wordt de risicoanalyse voor dit doel uitgevoerd. Er wordt ingegaan op de rol van *gag* en *pol* in het uitgangsvirus (FIV). De gegevens waaruit geconcludeerd kan worden dat *gag* en *pol* geen effect zullen hebben op de pathogeniteit en de virulentie van FHV worden genoemd en bediscussieerd, en voldoende bevonden.

Er wordt uitgebreid ingegaan op eventuele verspreiding van het virus in het milieu. Verspreiding (shedding) komt voor, maar er wordt gesteld dat de gevolgen zeer beperkt zullen zijn.

Conclusies:

- Er is afdoende aangetoond dat de aanwezigheid van het FIV_{env} gen en FIV_{gag} gen niet leidt tot een verhoogde virulentie, een veranderend weefsel tropisme noch tot een veranderd gastheerbereik.
- Gevaccineerde en niet-gevaccineerde katten mogen bij elkaar worden gehuisvest.
- Er hoeven geen specifieke beschermende maatregelen te worden genomen.
- Er hoeft geen controle plaats te vinden van shedding van de vaccinstammen.

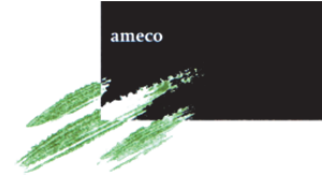
Opmerkingen:

Geen.

19. [CGM/120207-02](#) (2012-02-07)

Ingeperkt gebruik van herpesvirusvaccins in lama's

Betreft: wijzigingsverzoek van een vergunning voor handelingen met lama's die een mix van vectoren met verschillende virale antigenen krijgen geïnjecteerd De aanvrager wil ook



herpesvirussen inspuiten in de lama's en deze werkzaamheden op DM-I en D-I inperkingsniveau uitvoeren.

Chimere aspecten: de term chimeer wordt niet genoemd in het advies. Het onderzoek bevat twee vectoren die aan de definitie van chimeer voldoen:

- (gg-) herpesvirusvaccin Vaxxitek HVT + *Infectious bursal disease virus* (IBD)
- een verzwakte gg-kanariepokkenvirusstam (ALVAC) met influenza antigen

Onderbouwing:

- Omdat het Meleagrid herpesvirus 1 geen ziekte veroorzaakt in zijn gastheer, kalkoenen, wordt het virus als apathogeen beschouwd.
- De COGEM acht de ALVAC stam niet pathogeen voor mensen en dieren en heeft de stam geclassificeerd als een klasse 1 pathogeen.
- Een mogelijk risico van het experiment betreft recombinatie van de toegediende virussen en vectoren met in de lama's aanwezige herpesvirussen. De herpesvirusvaccins worden in spierweefsel van de lama's toegediend en co-lokalisatie is daarmee zeer onwaarschijnlijk. De ALVAC vector en plasmide vectoren worden beide in een ander spierweefsel dan de herpesvirussen toegediend. Omdat de toegediende virusstammen en virale vectoren bovendien geen replicatie in zoogdieren vertonen, acht de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat er recombinatie plaats zal vinden tussen de toegediende virusstammen en virale vectoren, of dat er recombinatie plaats zal vinden tussen een toegediend virus en een in de lama aanwezig virus. Daarmee is de kans op verdere verspreiding van de toegediende virusstammen en gg-virale vectoren verwaarloosbaar klein.

Conclusies: werkzaamheden met lama's kunnen worden uitgevoerd op inperkingsniveau's DM-I en D-I. Analyse van afgenomen bloed of serum van de lama's kan op ML-I inperkingsniveau plaatsvinden.

Opmerkingen:

In het advies worden een grote hoeveelheid werkzaamheden behandeld waarbij gg-virussen worden gemengd met niet gg-virussen en plasmide vectoren. Het advies gaat niet in op de vraag of er interacties plaats kunnen vinden tussen de genproducten van de gecloneerde virale genen, en wat daar de consequenties van (kunnen) zijn. De inschaling is 'DM-I en D-I', maar het is niet duidelijk welke werkzaamheden op welk niveau moeten worden uitgevoerd.

20. [CGM/120611-01](#) (2012-06-11)

Introductie in het milieu van een recombinant herpesvirusvaccin tegen laryngotracheitis en de ziekte van Marek

Betreft: Veterinaire studie bij kippen met gg *Meleagrid herpesvirus* 1 (MeHV-1, stam 'FC126'). Het ggo HVT/ILT-138 is als vaccin in diverse landen buiten de EU onder de naam Innovax-ILT geregistreerd.

Chimere aspecten: In de virusstam FC126 zijn twee glycoproteïnen van het *Gallid herpesvirus* 1 ingebracht. Het virus wordt recombinant genoemd maar voldoet aan de definitie van een chimeer virus.

Onderbouwing:

De door de aanvrager gestelde conclusie, dat HVT/ILT-138 stabiel is, kan niet worden geverifieerd doordat aangeleverde documentatie niet compleet is.

Aan de hand van gegevens uit de literatuur, ervaringen in het veld en de door de aanvrager aangeleverde experimentele gegevens, wordt afgeleid dat HVT/ILT-138 in vergelijking met uitgangsstam FC126 niet veranderd is in biologische eigenschappen en pathogeniteit. Er wordt uitgebreid ingegaan op de mogelijkheden voor recombinatie. Indien recombinatie van HVT/ILT-138 met wildtype virus optreedt is het risico voor het milieu verwaarloosbaar klein. Op grond van de literatuur en de door de aanvrager aangeleverde experimentele studiegegevens is de kans dat HVT/ILT-138 zich bij de voorgenomen werkzaamheden in het milieu kan verspreiden verwaarloosbaar klein.

Conclusies:

- De moleculaire karakterisering is niet compleet; er moeten aanvullende gegevens worden verstrekt voordat de COGEM een conclusie kan trekken.
- HVT/ILT-138 is in vergelijking met uitgangsstam FC126 niet veranderd in biologische eigenschappen en pathogeniteit.
- Indien recombinatie van HVT/ILT-138 met wildtype virus optreedt, is het risico voor het milieu verwaarloosbaar klein.
- De kans dat HVT/ILT-138 zich bij de voorgenomen werkzaamheden in het milieu kan verspreiden is verwaarloosbaar klein

Opmerkingen:

De aanvullende informatie waarom wordt gevraagd is geleverd en besproken in de twee volgende adviezen.

21. [CGM/120718-01](#) (2013-01-23)

Aanvullende informatie Innovax ILT en MD

22. [CGM/121024-01](#) (2013-01-23)

Aanvullende informatie betreffende een kippenvaccin tegen infectieuze laryngotracheitis en de ziekte van Marek.

In deze adviezen wordt aanvullende informatie verstrekt bij CGM/120611-01, op grond waarvan kan worden geconcludeerd dat:

- HVT/ILT-138 voldoet aan zijn theoretische beschrijving
- Het gg-virus is genetisch stabiel is.

Humaan Metapneumovirus (hMPV)

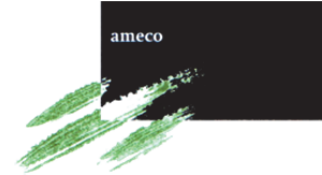
Binnen de verslagperiode is een advies afgegeven, [CGM/040427-01](#) (2004-04-29), waarin gerefereerd wordt aan een eerder advies dat mede betrekking heeft op een chimeer hMPV. Binnen advies CGM/040427-01 worden echter geen chimere virussen besproken. Het advies is daarom buiten beschouwing gelaten.

23. [CGM/091124-04](#) (2009-11-24)

Onderzoek aan humaan metapneumovirus (hMPV).

Betreft: Chimeren tussen stammen van hMPV en andere paramyxovirussen: *Respiratory syncytial virus* (RSV), *Avian pneumovirus* (APV) en *Parainfluenzavirus* (PIV). Het gaat om uitwisseling van individuele genen, maar ook om combinaties van genen van deze virussen.

Er worden vier soorten experimenten voorzien:



1) Uitwisseling van genen van hMPV in een geattenueerde RSV-backbone; 2) uitwisseling van individuele genen en combinaties van APV genen in een wildtype hMPV backbone; 3) uitwisseling van de interferon antagonist van hMPV en APV in de APV backbone en 4) eventueel ook uitwisseling van het fosfoproteïne (V/C) eiwit van PIV5/SV5 met het fosfoproteïne van hMPV in de SV5 backbone.

Er worden zowel in vitro als in vivo experimenten voorzien.

Chimere aspecten: Het advies noemt chimere virussen. De te vormen chimere virussen worden gedetailleerd beschreven.

Onderbouwing:

Activiteiten met de beschreven chimeren van Paramixovirussen zijn in een eerder advies ingeschaald op ML-III / DM-III; de individuele virussen zijn van pathogeniteitsklasse 2. Er was echter te weinig bekend over de virussen om een inschaling op niveau ML-II / DM-II toe te kunnen staan.

In het onderhavige advies wordt gesteld dat er inmiddels meer bekend is over deze groep virussen, en dat daarom de regel '2 + 2 = 2' (dus: chimeren tussen 2 virussen van pathogeniteitsklasse 2 zullen een virus opleveren dat pathogeniteitsklasse 2 heeft) kan worden toegepast.

Het minderheidsstandpunt stelt dat de onderbouwing onvoldoende is om te kunnen concluderen dat er geen schadelijkere virussen kunnen ontstaan.

De onderbouwing die gegeven wordt geeft geen gedetailleerde overwegingen en blijft vrij algemeen.

Drie leden van de commissie hebben aangegeven dat zij een minderheidsstandpunt innemen. 'Zij wijzen erop dat het hier virussen betreft die via ondermeer aerosolen direct op de mens overgedragen kunnen worden, dat chimere metapneumovirussen mogelijk niet geattenuerd zijn en dat een nieuw chimeer virus zich in de menselijke populatie kan verspreiden. Daarom zijn zij van mening dat de werkzaamheden op ML-III niveau uitgevoerd moeten worden en dat alleen werkzaamheden met chimere virussen met voldoende aannemelijk gemaakte attenuerende modificaties omlaag geschaald kunnen worden naar ML-II niveau.'

Conclusie:

- Er is geen bezwaar tegen omlaagschaling van de eerste drie soorten experimenten van ML-III / DM-III naar ML-II / DM-II.
- Er is een minderheidsstandpunt van drie leden van de commissie, die van mening zijn dat er onvoldoende gegevens zijn om omlaagschaling te kunnen toestaan.

Opmerkingen:

De onderbouwing gaat niet gedetailleerd in op de rol van de verschillende genen die worden uitgewisseld.

In het eerdere advies (CGM/011212-01) zijn aanvullende maatregelen opgelegd; het wordt in dit advies niet duidelijk in hoeverre deze maatregelen moeten worden genomen.

Humaan Parechovirus (HpeV types 1 - 5)

24. [CGM/070115-01](#) (2007-01-15)

Inschaling van handelingen met humane Parechovirussen

Betreft: gg virussen worden vervaardigd door het combineren van genen en niet-coderende sequenties van humane parechovirussen. Daarnaast worden ook onderdelen (impliciet wordt bedoeld genen en niet-coderende sequenties) van parechovirussen gecombineerd met enterovirussen. De chimere virussen worden niet gedetailleerd beschreven.

Chimere aspecten: Er is sprake van chimere virussen, waarbij wordt bedoeld op virussen waarbij onderdelen van HpeV virussen worden uitgewisseld, alsook op virussen waarbij onderdelen van HpeV zijn uitgewisseld met enterovirussen.

Onderbouwing:

De inschaling van gg HpeV is ML-II, op basis van de inschaling van HpeV als pathogeniteitsklasse 2.

Bij het hanteren van de chimere virussen moet voorzichtigheid betracht worden, omdat er nog weinig bekend is over de eigenschappen van sommige parechovirussen. Een argument om voorzichtig te zijn, is dat van enterovirussen bekend is dat uitwisseling van genen een belangrijke wijze is waardoor de virulentie toeneemt en de transmissieroute verandert.

Conclusie:

- Werkzaamheden met de vervaardigde chimere virussen moeten worden uitgevoerd onder inperkingsniveau ML-III.
- Aanvullende voorschriften:
 - open handelingen dienen te worden uitgevoerd in een klasse II veiligheidskabinet;
 - Laboratoriummedewerkers moeten handschoenen te dragen om zo de kans op infecties te minimaliseren.

Opmerkingen:

De uitgewisselde genen worden niet gespecificeerd. Het kan om ieder gen gaan. Dit levert onzekerheden op voor de risicoanalyse, die worden verdisconteert in een verhoogde inschaling.

Influenza A virus

25. [CGM/040326-03](#) (2004-03-31)

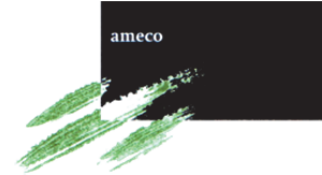
Inschaling van influenza A virusstammen

Betreft: Overwegingen op grond waarop de inschaling van influenza A virusstammen wordt bepaald.

Chimere aspecten: Dit advies betreft geen chimere virussen. Het wordt hier meegenomen omdat het de basis vormt van de inschaling van de daarop volgende adviezen over activiteiten met gg influenza A virussen.

Onderbouwing:

Het advies geeft uitgebreide achtergrondinformatie over influenza A virussen, de rol van het haemaglutinine (HA) en neuraminidase (NA) bij de gastheerspecificiteit, en HA en NA en andere virale genen op de virulentie. Het wijst erop dat enkele puntmutaties al invloed kunnen hebben op de virulentie. Bij beoordeling van vaccins moet rekening gehouden worden met 'antigene drift' en 'antigene shift' waardoor de virulentie kan veranderen. De gastheerspecificiteit kan dusdanig gemakkelijk veranderen dat er onvoldoende basis is om onderscheid te maken tussen aviaire en humane influenza A virussen. Het HA eiwit speelt ook



een rol bij de pathogeniteit van het *Influenza A* virus door de specifieke knip plaats voor een bepaald cellulair protease. Veranderingen van enkele aminozuren in de knip plaats maken het eiwit ook gevoelig voor andere proteases; hierdoor verandert de specificiteit en gastheerbereik van het virus, maar ook de pathogeniteit.

Conclusies:

- Alle influenza A virussen, zowel aviaire als humane virussen, zowel hoog- als laag pathogene, moeten worden ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.
- Activiteiten met gg influenza A virussen moeten worden ingeschaald op ML-III niveau; experimenten met proefdieren worden ingeschaald op DM-III niveau.
- Afhankelijk van het type werkzaamheden kunnen 'aanvullende voorschriften' (elders in het advies: 'aanvullende eisen') worden opgelegd voor de uitvoering van de werkzaamheden; genoemd worden adembescherming, vaccinatie en toepassing van antivirale middelen.
- Activiteiten met gg influenza A virussen kunnen case-by-case beoordeeld worden, 'waarbij specifieke activiteiten op een lager inperkingsniveau ingeschaald kunnen worden, mits de veiligheid van mens en milieu gewaarborgd blijft.
- Aspecten die voor een lagere inperking kunnen pleiten zijn bijvoorbeeld de aard van de experimenten, de keuze van virusstammen of de te gebruiken virale sequenties.'

Tussen 2004 en 2006 heeft de COGEM een aantal malen geadviseerd over de aanvullende voorschriften die moeten gelden bij werkzaamheden met gg influenza A virussen. Dit heeft geleid tot het volgende advies [CGM/061214-01](#), van 14 december 2006, dat vanaf dat moment geldt.

26. [CGM/040518-02](#) (2004-05-21)

Recombinante virussen samengesteld met behulp van 'reverse genetics' uit hoog- en laag pathogene aviaire influenza A virussen

Betreft: Uitwisselen van genoomsegmenten en/of specifieke sequenties van hoog en laag pathogene influenza A virussen.

Chimere aspecten: Het begrip 'chimeer' wordt niet genoemd, maar in een later advies (CGM/040809-01) worden de hier gebruikte virussen als 'chimeer' bestempeld.

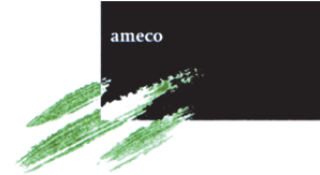
Onderbouwing:

Er wordt nader beargumenteerd dat de proteolytische knip plaats in het HA eiwit van belang is voor de virulentie: 'Tot nog toe is uit eerdere experimenten van de aanvrager gebleken dat in alle gevallen waarbij op grond van [een bepaalde virulentietest] sprake is van een virulent virus, de knip plaats van het HA eiwit bestaat uit meerdere basische aminozuren. Hierdoor kan het eiwit ook in veel meer verschillende cellen geknipt worden, waardoor het virus een veranderde pathogeniteit en gastheerbereik heeft'.

De aanvullende eisen, die deels zijn voorgesteld door Bureau GGO, maar daar ook deels van afwijken, worden bediscussieerd en beargumenteerd.

Conclusies:

- Het advies verwijst naar de conclusies van het eerdere advies CGM/040326-03; de overwegingen over pathogeniteit en virulentie worden hier herhaald.



- ‘Omdat recombinante virussen geproduceerd worden middels genoomsegmenten afkomstig van hoog en laag pathogene aviaire influenza A virusstammen, is een reële kans aanwezig dat recombinante virussen geproduceerd worden met een hoge virulentie.’
- Inschaling: laboratoriumwerkzaamheden: ML-III; handelingen met proefdieren: DM-III
- Aanvullende voorschriften voor laboratoriumwerkzaamheden:
 - medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan *Influenza A* virus
 - medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden
 - alle handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden
 - het dragen van een mondkapje van model N95 of hogere specificatie (17) én beschermende bril is verplicht.
- Aanvullende voorschriften voor handelingen met proefdieren (kippen, eenden en varkens)
 - medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan *Influenza A* virus;
 - medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden;
 - het dragen van een mondkapje van model N95 of hogere specificatie (19), beschermende bril is verplicht én het innemen van antivirale middelen twee dagen voor aanvang van de studie tot vijf dagen daarna is verplicht, óf tijdens de werkzaamheden wordt een volledig gezicht beschermend persluchtmasker gedragen;
 - bij het verlaten van de onderzoeksruimten wordt gedoucht.

Opmerkingen:

Het is niet duidelijk welke specifieke genoomsegmenten worden uitgewisseld. Eventuele veranderingen in het tropisme zullen worden bestudeerd, maar de mogelijkheid van tropismeverandering wordt niet vooraf al bediscussieerd in de risicoanalyse.

27. [CGM/040809-01](#) (2004-08-09)

Pathogeniteitsstudies naar hoog- en laagpathogene influenza A virussen.

Betreft: Uitwisseling van genoomsegmenten tussen hoog en laag pathogene influenza A virussen; er worden ook puntmutaties in verschillende genoomsegmenten aangebracht.

Chimere aspecten: De geproduceerde virussen worden ‘chimere recombinant influenza A virussen’, vergelijkbaar met de virussen geproduceerd in CGM/040518-02, genoemd.

Onderbouwing:

Er wordt gerefereerd aan de eerdere conclusies van CGM/040518-02; deze worden in dit advies vastgehouden.

De aanvullende voorschriften voor laboratoriumwerkzaamheden zijn gelijk aan die in CGM/040518-02. Er wordt aangegeven dat de faciliteit van de aanvrager beschikt over onderdrukisolatoren waarin de proefdieren (muizen, kippen, fretten en apen) zullen worden gehuisvest; deze huisvesting beschermt de werknemers afdoende tegen contact met de virussen. De aanvullende voorschriften voor handelingen met proefdieren uit CGM/040518-02 vervallen daarmee.

Conclusies:

- Op basis van eerdere overwegingen over uitwisseling van genen en het aanbrengen van mutaties moet de inschaling ML-III en DM-III zijn.
- Aanvullende voorschriften voor laboratoriumhandelingen zijn gelijk aan die van CGM/040518-02.
- Aanvullende voorschriften voor handelingen met proefdieren:
 - de dieren worden in onderdrukisolatoren gehuisvest.

Opmerkingen:

Er wordt niet op ingegaan welke specifieke genoomsegmenten worden uitgewisseld en om welke mutaties het gaat. Er wordt niet ingegaan op het tropisme van de chimere virussen.

28. [CGM/050201-01](#) (2005-02-01)

Pathogeniteitsstudies met recombinante influenza A virussen.

Betreft: Laboratoriumhandelingen en dierproeven met recombinante virussen van laag- en hoogpathogene influenza A virussen afkomstig uit alle mogelijke gastheren, met het doel om te bepalen welke delen van het genoom van het virus verantwoordelijk zijn voor de virulentie.

Chimere aspecten: In de experimenten worden zo genoemde 'chimere recombinant influenza A virussen' gebruikt.

Onderbouwing:

Voor de influenza A virussen die onder ML-II omstandigheden kunnen worden gehanteerd gelden de volgende overwegingen. De geproduceerde chimere influenza A virussen zijn bedoeld voor vaccinontwikkeling. Deze virussen zijn gebaseerd op twee met name genoemde geattenueerde Influenza virussen. Hierin zullen maximaal twee genoomsegmenten worden uitgewisseld met andere Influenza virussen 'uit alle mogelijke gastheren'; er wordt niet verder gespecificeerd om welke influenza A virussen het gaat. De uitgewisselde segmenten zullen geen door genetische modificatie aangebrachte mutaties bevatten. De eis wordt gesteld dat het HA geen polybasische klievingssite mag bevatten.

Experimenten met andere chimere influenza A virussen, waaronder influenza A virussen waarin mutaties zijn aangebracht, blijven op ML-III ingeschaald.

Conclusies:

- Er worden criteria opgesteld en toegepast voor influenza A virussen waarmee werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau kunnen worden uitgevoerd.
- Samenvatting van deze criteria: de het uitgangsvirus is geattenuerd; er worden maximaal 2 segmenten uitgewisseld met overeenkomstige segmenten van andere influenza A virussen; er worden geen mutaties geïntroduceerd; het HA bevat geen polybasische klievingssite.
- Aan de eerdere aanvullende voorschriften voor laboratoriumhandelingen wordt toegevoegd:
 - het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht.
- Er worden additionele aanvullende voorschriften gegeven voor infectie van geëmbryoneerde kippeneieren:
 - de geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed



- de dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

Opmerkingen:

Uit de tekst blijkt niet of het bij de uitwisseling steeds zal gaan om de segmenten die coderen voor HA en NA. Er wordt niet ingegaan op het tropisme van de chimere virussen.

29. [CGM/060224-01](#) (2006-02-24)

Vaccinontwikkeling voor humane influenza type H5N1.

Betreft: Laboratoriumhandelingen met gg influenza A virussen die gebaseerd zijn op de laboratoriumstam A/PR/8/34 en de HA en NA- genen van hoogpathogene influenza A virussen. Doel van het onderzoek is vaccin-ontwikkeling tegen het H5N1 influenzavirus.

Chimere aspecten: De gebruikte virussen worden 'chimere influenzavirussen' genoemd.

Onderbouwing:

In het advies wordt vermeld dat 'de aanvrager destijds heeft aangegeven dat het HA gen geen basische klievingplaats bevat en dat in de heterologe genoomsegmenten geen ongedefinieerde mutaties met behulp van recombinante DNA technieken aangebracht zijn.' De inschaling wordt nu ML-II.

Conclusies:

- Het advies verwijst naar het advies CGM/050201-01. Het ontwerp van de experimenten en de argumentatie in het advies is in lijn met dit eerdere advies. De inschaling is ML-II, in de aanvullende voorschriften wordt geëist:
 - heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd;
 - voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten geldt dat de aanwezigheid van een basische klievingsplaats is uitgesloten.

Opmerkingen:

Er worden twee aanvullende voorschriften toegevoegd die, in tegenstelling tot de eerder geformuleerde voorschriften, geen werkvoorschriften zijn maar voorwaarden die worden gesteld aan de te gebruiken virussen.

Het aanvullende voorschrift 'heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd' is wezenlijk anders dan wat de aanvrager eerder heeft gesteld: '...dat in de heterologe genoomsegmenten geen ongedefinieerde mutaties met behulp van recombinante DNA technieken aangebracht zijn'.

Welke gekarakteriseerde eigenschappen wel en niet aanvaardbaar zijn in influenza A virussen die onder ML-II omstandigheden kunnen worden gehanteerd staat niet genoemd.

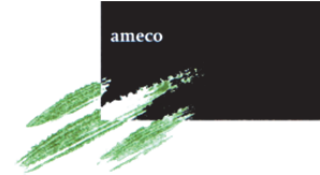
30. [CGM/060228-02](#) (2006-02-28)

Grootschalige productie van de influenza vaccins NIBRG-12 en NIBRG-14.

Betreft: Het gaat in dit advies om de inperkings-eisen die nodig zijn bij grootschalige productie. Conform de Regeling kunnen activiteiten die onder ML-II kunnen worden uitgevoerd, grootschalig onder MI-III worden uitgevoerd.

Chimere aspecten: De gebruikte virussen worden in CGM/060224-01 behandeld, en zijn dus chimeer. Dat wordt in dit advies niet vermeld.

Onderbouwing:



Het advies geeft een uitgebreide onderbouwing van de noodzakelijk te nemen veiligheidsmaatregelen en stemt in met het inschalingsvoorstel omdat de inrichtingsvoorschriften van een MI-III ruimte, alsmede de aanvullende voorschriften zoals gesteld door Bureau GGO, voldoende fysieke inperking geven om de veiligheid voor mens en milieu te waarborgen.

Conclusies:

- De aanvullende voorschriften die onder ML-II gelden zijn door Bureau GGO ‘vertaald’ naar de MI-III situatie:
 - medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan *Influenza A* virus;
 - medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden;
 - een ventilatiesysteem is aanwezig waardoor in de werkruimte onderdruk ontstaat ten opzichte van de heersende atmosferische druk. In het onafhankelijke luchtafvoerkanaal is een HEPA filter aangebracht.

Opmerkingen:

Er wordt vanuit gegaan dat de aanvrager een aantal maatregelen zal nemen, die niet worden vermeld in de aanvullende voorschriften. Een voorbeeld is de inactivatie van het virus met betapropiolacton, waarvan de validatie wordt besproken.

Het advies geeft geen specifieke onderbouwing waarom die voorschriften die gelden onder ML-II maar niet worden overgenomen in de voorschriften voor MI-III, achterwege kunnen blijven.

Het advies refereert aan CGM/050201-01, terwijl in advies CGM/060224-01 de gebruikte virussen worden beschreven.

31. [CGM/060329-02](#) (2006-03-29)

Omlaagschaling van de commerciële productie van influenza vaccin.

Betreft: Omlaagschaling van de commerciële productie van influenza vaccin, naar werkzaamheden in een cleanroom die is gekarakteriseerd als MI-II.

De vaccinstammen worden beschreven; ze zijn afgeleid van een geattenueerde stam, waarvan 6 segmenten zijn gebruikt, en twee segmenten coderend voor HA en NA, van een aantal genoemde stammen. Uit het HA is de basische klievingssite verwijderd.

Chimere aspecten: De term ‘chimeer’ wordt niet gebruikt, maar de beschreven virussen komen overeen met influenza A virussen die eerder als chimeer zijn gekarakteriseerd.

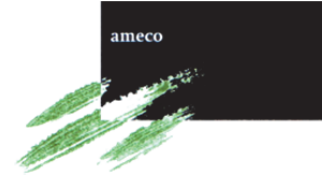
Onderbouwing:

De voorschriften zijn door Bureau GGO voorgesteld, en beargumenteerd overgenomen.

Conclusies:

- Het advies refereert aan CGM/050201-01 en CGM/060224-01 voor de inschaling van kleinschalige experimenten met influenzavirussen ten behoeve van vaccinontwikkeling, en naar CGM/060228-02, waar het gaat om productie in fermentoren, onder MI-III condities. Hier gaat het om productie in kippeneieren, in een MI-II cleanroom. Bureau GGO had aanvullende voorschriften opgesteld; deze zijn overgenomen in dit advies.
- De aanvullende voorschriften voor MI-III worden nu gedifferentieerd; ze herhalen de voorschriften uit eerdere adviezen:

inrichtingsvoorschriften:



- Een ventilatiesysteem is aanwezig. De productieruimte en sluis worden omringd door een schil met onderdruk ten opzichte van de heersende atmosferische druk. De luchtafvoer vanuit de productieruimte en schil is een onafhankelijk kanaal waarin een HEPA filter is aangebracht.

werkvoorschriften:

- Het dragen van volledig beschermende kleding, een haarkapje, een mond- en neuskapje (N-95 of hogere specificatie) en een beschermende bril is verplicht ('volledig beschermende kleding' en 'een haarkapje' zijn aanvullingen ten opzichte van eerdere werkvoorschriften);
- Voorschriften voor werkzaamheden met geëmbryoneerde eieren zijn hier aangepast, vermoedelijk omdat de situatie hier anders is dan in CGM/050201-01. De voorschriften luiden nu: de geïnfecteerde eieren worden in een rooster geplaatst en in stalen stellingen met lekdichte bodemplaten in een stoof geïncubeerd;

overige aanvullende voorschriften:

- de backbone van de te vervaardigen gg influenza A virussen bestaat uit minimaal 6 genoomsegmenten die afkomstig zijn van A/PR/8/34 (een dergelijke eis werd eerder wel vermeld, maar niet als voorschrift opgenomen);
- heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd;
- voor heterologe HA-coderende genoomsegmenten geldt dat de aanwezigheid van een basische klievingsplaats is uitgesloten.

Opmerkingen:

'Heterologe genoomsegmenten zijn volledig gekarakteriseerd': zie de opmerking bij CGM/060224-02.

De voorschriften zijn (effectief) gelijk aan de voorschriften in de adviezen waaraan wordt gerefereerd, behalve de genoemde onderdelen. Voor deze veranderingen wordt geen specifieke onderbouwing gegeven.

Er wordt gerefereerd aan de methode die de aanvrager zal gebruiken voor de inactivatie van het virus (met 0,2% formaldehyde, 24h bij 37°C), maar dit wordt niet bij de voorschriften gevoegd.

Het advies [CGM/060518-01](#) gaat nog nader in op de onderbouwing van het onderhavige advies.

32. [CGM/060724-04](#) (2006-07-24)

Handelingen met een laag pathogene H5N1 influenza stam en serologisch onderzoek.

Betreft: De stam wordt beschreven als een specifieke geattenueerde influenza A stam waarin twee genoomsegmenten met een specifieke hoogpathogene stam zijn uitgewisseld; de basische klievingsite van het HA is verwijderd.

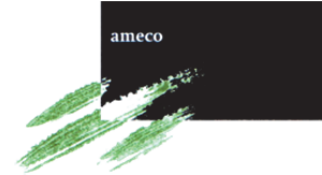
Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet gebruikt, maar de beschreven virussen komen overeen met influenza A virussen die eerder als chimeer zijn gekarakteriseerd.

Onderbouwing:

Er wordt ingegaan op de mogelijkheid van recombinatie.

Conclusies:

- Voor de inschaling en de werkvoorschriften wordt verwezen naar CGM/050201-01.



- Het advies concentreert zich op de mogelijkheid dat de laagpathogene stam bij de incubatie met patiëntenserum in contact kan komen met een homologe virusstam, wat kan resulteren in recombinatie. Eventueel in het serum voorkomend *Influenza A* virus moet daarom geïnactiveerd worden.

Opmerkingen:

Er wordt niet ingegaan op het tropisme van de chimere virussen.

33. [CGM/060926-01](#) (2006-09-26)

Grootschalige productie van een influenza A vaccin in cellen.

Betreft: Met behulp van animale cellen wordt een vaccin geproduceerd tegen influenza A virussen. Het ggo wordt beschreven gebaseerd op de niet-pathogene influenza A virusstam A/PuertoRico/8/34 (H1N1), waaraan twee genoomsegmenten zijn toegevoegd coderend voor HA en NA, afkomstig uit H5N1 influenzavirussen.

De productiewerkzaamheden hebben enkele nieuwe aspecten.

Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet gebruikt, maar de beschreven virussen komen overeen met influenza A virussen die eerder als chimeer zijn gekarakteriseerd.

Onderbouwing:

De te gebruiken virusstam wordt beschreven, en er wordt gesteld dat de uitgewisselde segmenten volledig gekarakteriseerd zijn ; het HA mist de polybasische klievingsplaats. Aanwezigheid van deze klievingsplaats 'blijkt een belangrijke aanwijzing te zijn voor de pathogeniteit van het virus'.

Er wordt uitgebreid ingegaan op het gebruik van een veiligheidskabinet klasse 2 in een MI-III ruimte.

Conclusies:

- Open handelingen moeten worden uitgevoerd in een klasse-II veiligheidskabinet. Hierbij acht de COGEM het dragen van handschoenen noodzakelijk. Het dragen van een bril, mond- en neuskapje biedt bij het hier gebruikte virus geen additionele bescherming bij het uitvoeren van werkzaamheden in een dergelijk veiligheidskabinet, omdat het gebruikte virus geen kans heeft ooginfecties te veroorzaken (i.t.t. bijv. H7N7).
- Het batchvolume [5.000 i.p.v. 3.000 m³] heeft geen invloed op de veiligheid.

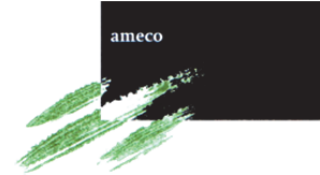
De COGEM kan geen uitspraak doen over de inactivatiemethode van het virus. De aanvrager heeft daarna aanvullende informatie verstrekt over de inactivatiemethode. In advies [CGM/070119-01](#) is beargumenteerd dat die informatie voldoende is.

Opmerkingen:

Het voorschrift dat medewerkers die griepverschijnselen vertonen niet aan de werkzaamheden mogen deelnemen wordt in de tekst terloops genoemd, maar komt niet terug in de conclusie.

Het advies wijst erop dat de voorschriften voor het verrichten van open handelingen in een MI-III ruimte afwijken van eerdere voorschriften, vooruitlopend op een nader algemeen COGEM advies (zie CGM/061214-01 hieronder).

De COGEM laat de bepaling van de consequenties van het feit dat zij geen uitspraak kan doen over de inactivatie van het virus, over aan de vergunningverlener.



34. [CGM/061024-01](#) (2006-10-24)

Grootschalige productie van een influenza A vaccin in eieren.

Betreft: Bij de grootschalige productie in eieren wordt gebruik gemaakt van een LAF kast. De vaccin stam voldoet aan de eisen van een laagpathogeen *Influenza A* virus.

Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet genoemd; de beschreven virusstam voldoet aan de criteria van een chimeer Influenza virus.

Onderbouwing:

Er wordt verwezen naar de adviezen CGM/060329-02 en CGM/060518-01.

Het advies geeft aan dat het optreden van risico's niet adequaat kan worden ingeschat omdat onduidelijk is hoe groot de blootstelling van medewerkers zal zijn. Contact met hoge concentraties ggo's wordt daarom niet uitgesloten.

Conclusies:

- De productie moet worden uitgevoerd onder condities vergelijkbaar met het ML-II niveau.
- Het gebruik van een LAF kast staat daarmee op gespannen voet.
- De door de aanvrager voorgestelde maatregelen, het dragen van een bril en een halfgelaatsmasker met een zogenaamd klasse P3 filter, zijn onvoldoende als primaire bescherming.
- Medewerkers moeten voldoende beschermd worden, 'hetzij door het enten en oogsten van de eieren uit te voeren onder sterk inperkende condities of door een afdoende persoonlijke bescherming van de medewerkers, zodat een vergelijkbare bescherming als onder ML-II condities bereikt wordt'.

Opmerkingen:

Op dit advies wordt nog nader ingegaan in advies CGM/070222-03.

35. [CGM/061214-01](#) (2006-12-14)

Aanvullende voorschriften bij werkzaamheden met gg influenza A virussen.

Betreft: Harmonisatie van de aanvullende voorschriften voor werkzaamheden met *Influenza A* virus op zowel inperkingsniveau ML-III als ML-II.

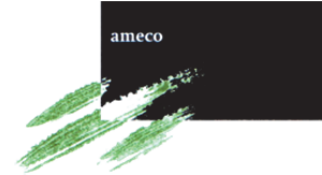
Chimere aspecten: De voorschriften die gelden voor het ML-II niveau gelden ook specifiek voor laagpathogene chimere virussen die gevormd worden door uitwisseling van maximaal twee genomsegmenten, en waarbij het HA geen basische klievingssite heeft. Chimere aspect wordt niet benoemd in het advies.

Onderbouwing:

Reden om dit advies te formuleren is dat er eerder een aantal adviezen is afgegeven waarin verschillende aanvullende voorschriften zijn gegeven. In dit advies worden de voorschriften geharmoniseerd. Er wordt ingegaan op de rationale van deze aanvullende voorschriften.

Conclusies:

- Bij werkzaamheden met gg-influenzavirussen op ML-III niveau zijn de volgende aanvullende voorschriften van toepassing:
 - Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II;
 - Medewerkers dienen gevaccineerd te zijn;
 - Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden;



- Het dragen van handschoenen is verplicht;
 - Bij werkzaamheden met H7 gg-influenzavirussen is een beschermende bril verplicht
 - Het dragen van een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) is verplicht.
- Werkzaamheden met gg influenzavirussen die gebaseerd zijn op sterk verzwakte influenzavirussen kunnen, zoals de COGEM eerder geadviseerd heeft, onder ML-II niveau plaatsvinden (6). De COGEM acht hierbij de volgende aanvullende voorschriften van toepassing:
 - Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II;
 - 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 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn.

Opmerkingen:

In dit advies worden eerdere voorschriften voor werkzaamheden met *Influenza A* virus geharmoniseerd.

In de conclusies wordt niet aangegeven tegen welke organismen de medewerkers gevaccineerd dienen te zijn.

Het is opgevallen dat in dit advies alleen wordt gesproken over laboratoriumhandelingen.

Dat wordt rechtgezet in het advies [CGM/070328-01](#) (2007-03-28), waar voorschriften worden gegeven voor het houden van proefdieren, onder DM-II:

- Dieren worden gehuisvest in filtertopkooien.
- Open handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet klasse-II.
- Het dragen van handschoenen is verplicht.
- Medewerkers met griepsymptomen dienen te worden uitgesloten van deelname aan de werkzaamheden.
- Medewerkers dienen een mond- en neuskapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) te dragen óf gevaccineerd te zijn tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen.

Opmerkelijk is dat hier voor de vaccinatie is toegevoegd 'tegen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen'. In eerdere adviezen is wel opgemerkt dat medewerkers gevaccineerd moeten zijn specifiek tegen de influenzavirussen waarvan wordt verwacht dat ze zullen circuleren in het betreffende seizoen, maar die toevoeging is niet eerder expliciet in de conclusies opgenomen.

Er wordt niet ingegaan op het tropisme van het ggo.

36. [CGM/061218-01](#) (2006-12-28)

Handelingen met een recombinant H7N7 influenzavirus en serologisch onderzoek.

Betreft: Een *Influenza A* virus gebaseerd op de niet-virulente verzwakte vaccinstam A/Puerto Rico/8/34 waaraan de genoomsegmenten H7 en N7, afkomstig van een hoog pathogene influenzastam, zijn toegevoegd. Met dit recombinante H7N7 virus (rec-H7N7) wil de aanvrager

bepalen of bij mensen na een doorgemaakte infectie met wild type H7N7 antistoffen in hun bloedserum aanwezig is.

Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet gebruikt, maar het beschreven Rec H7N7 virus voldoet aan de criteria van een chimeer *Influenza A* virus.

Onderbouwing:

Het advies herhaalt de overwegingen van het eerdere advies over serologisch onderzoek met *Influenza A* virus (CGM/060724-04), waar het een vervolg op is, en verwijst naar het eerdere 'geharmoniseerde' advies CGM/061214-01.

Conclusies:

- Rec-H7N7 laagpathogeen is aangezien het virus bestaat uit twee genoomsegmenten van een hoogpathogeen virus en zes genoomsegmenten uit de verzwakte influenzavirusstam PR8.
- De inactivatiemethode waarmee patiëntenserum vrijgemaakt wordt van eventueel aanwezig wt-H7N7 effectief, zodat de kans op eventuele vorming van recombinatie met rec-H7N7 verwaarloosbaar klein is.
- Gezien dit alles, kunnen de werkzaamheden met influenzavirussen volgens de COGEM op ML-II inperkingniveau uitgevoerd worden. Om eventuele risico's verder te beperken dienen aanvullende maatregelen in acht genomen te worden.

Opmerkingen:

Geen.

37. [CGM/070222-03](#) (2007-02-22)

Grootschalige productie van een influenza A vaccin in eieren.

Betreft: Het betreft een aanvullend advies op CGM/061024-01, waarin specifiek wordt ingegaan op door de aanvrager verstrekte aanvullende gegevens over het vrijkomen van Influenza virus bij de grootschalige productie.

Chimere aspecten: Voor de discussie over chimere aspecten zie CGM/061024-01.

Onderbouwing:

De resultaten van tests die door de aanvrager zijn gedaan worden beschreven en als voldoende beoordeeld.

Conclusies:

- De COGEM is van mening dat de [door de aanvrager genoemde] persoonlijke beschermingsmiddelen de medewerkers afdoende beschermen en dat de inactivatie van het ggo effectief is.
- De genoemde beschermingsmaatregelen zijn: het dragen van een beschermende bril en een halfgelaatsmasker met een zogenaamd P3 filter.

Opmerkingen:

Geen.

38. [CGM/070328-01](#) (2007-03-28, zie ook CGM/061214-01)

Aanvullende voorschriften bij handelingen met gg influenza A virussen.

Betreft: In het advies gaat het in wezen erom dat met 'reverse genetics' geproduceerde Influenza virussen op volgens de zelfde criteria worden ingeschaald als chimere virussen.

Chimere aspecten: Het begrip 'chimeer' wordt niet genoemd.

Conclusies:

- De conclusies ten aanzien van het gebruik van influenza A virussen onder DM-II omstandigheden zijn reeds besproken onder CGM/061214-01)

39. [CGM/070515-01](#) (2007-05-15)

Pathogenese en transmissie van influenzavirussen

Betreft: Het doel van het onderzoek betreft het bepalen van de genetische veranderingen die van invloed zijn op de pathogeniteit en transmissie van influenza A virussen die zijn samengesteld uit delen van hoog en laag pathogene stammen. De aanvrager heeft een verzoek ingediend om de experimenten met hoog pathogene gg-influenza A virusstammen te mogen uitvoeren op DM-III niveau met onderdruk, waarbij gebruik wordt gemaakt van een veiligheidskabinet klasse-III.

Chimere aspecten: Het begrip 'chimeer' wordt niet genoemd maar het advies betreft influenza A virussen samengesteld uit delen van hoog- en laag virulente stammen..

Onderbouwing:

De inschaling gebeurt onder meer op basis van de door de aanvrager verstrekte gegevens over de proefomstandigheden.

Conclusies:

- Handelingen met influenza A virussen die zijn ingeschaald op ML-III kunnen worden uitgevoerd op DM-III niveau.
- Indien daarbij een klasse III veiligheidskabinet wordt gebruikt hebben het gebruik van mond-, neus- en oogbeschermende middelen geen toegevoegde waarde.
- Proefdierexperimenten uitgevoerd dienen te worden uitgevoerd op DM-III niveau in een onderdrukisolator.

Verder wordt wat betreft werkzaamheden met geëmbryoneerde eieren verwezen naar CGM/061214-01:

- De geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed
- De dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-III geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.

Opmerkingen:

Het advies is een ad hoc aanpassing van eerdere adviezen, op basis van de specifieke situatie bij de aanvrager.

40. [CGM/100830-02](#) (2010-08-30)

Inschaling van werkzaamheden met gg influenza A/Udorn/307/72.

Betreft: Werkzaamheden met gg influenza A virussen die gebaseerd zijn op de backbone van influenza A/Udorn/307/72 en influenza A/Puerto Rico/8/34.

Chimere aspecten: het begrip 'chimeer' wordt niet genoemd, maar het gaat om reassortanten van verschillende influenza A virusstammen.

Onderbouwing:

Er wordt beargumenteerd dat de gg virussen afgeleid van influenza A/Puerto Rico/8/34 voldoen aan de eisen van laagpathogene influenza A virussen en onder ML-II kunnen worden gehanteerd.

Op basis van de aangeleverde gegevens en de wetenschappelijke literatuur is de COGEM van mening dat de attenuering van de influenza A/Udorn/307/72 onvoldoende bewezen is, om een classificatie als laagpathogeen virus te rechtvaardigen.

Conclusies:

- Er kan niet worden ingestemd met een inschaling van de voorgenomen werkzaamheden met gg- influenza A/Udorn/307/72 op ML-II inperkingsniveau.
- De aanvullende eisen voor activiteiten met influenza A virussen uit CGM/061214-01 worden herhaald.

Opmerkingen:

De voorwaarden waaronder onder ML-II kan worden gewerkt worden hier scherper geformuleerd dan in CGM/061214-01.

41. [CGM/110921-01](#) (2011-09-21)

Inschaling werkzaamheden recombinant aviair *Influenza A* virus H7N1.

Betreft: Het gaat om recombinante stammen die zijn gebaseerd op het tijdens de epidemie verkregen klinische vogelgriepisolaat A/turkey/Italy/977/V99.

Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet gebruikt, maar het gaat om recombinant virussen waarin het NS1 segment is uitgewisseld met een homolog segment uit een andere influenza A virusstam.

Onderbouwing:

Er zijn geen gegevens aangeleverd over de virulentie- of pathogeniteitskenmerken van de toegepaste virussen. Daardoor kan geen uitspraak worden gedaan over hun pathogeniteit. Tevens is A/turkey/Italy/977/V99 geen verzwakte laboratoriumstam.

Conclusies:

- Er wordt niet voldaan aan de voorwaarden die omlaagschaling van werkzaamheden met recombinant influenza virussen rechtvaardigen.
- Werkzaamheden moeten worden uitgevoerd onder ML-III inperking.
- Het aanvullende voorschrift van het gebruik van een klasse 2 veiligheidskabinet wordt genoemd.

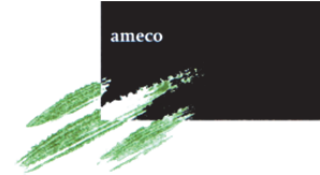
Opmerkingen:

In de conclusie wordt vermeld dat er gewerkt moet worden onder ML-III omstandigheden, met inachtnaam van niet gespecificeerde aanvullende maatregelen 'waaronder het verrichten van open handelingen in een klasse II veiligheidskabinet'; het is niet duidelijk waarom dit voorschrift benadrukt wordt. In de tekst van het advies staan uitgebreide aanvullende voorschriften vermeld die niet terugkomen in de conclusie. Aangezien het om een H7 virus gaat, wordt in de tekst het aanvullende voorschrift genoemd dat een bril moet worden gedragen.

42. [CGM/130530-01](#) (2013-05-30)

Productie van gg influenza A/HK/1/68 (HKMA20-C) virussen.

Betreft: Er worden werkzaamheden voorzien met een influenza A/HongKong/1/68 stam (een H3N2 virus), met de hemagglutinine-eiwitten van seizoensgebonden influenza A H3N2 virussen. De aanvrager geeft argumenten waarom de gebruikte influenza A stam als laag pathogeen wordt beschouwd.



Chimere aspecten: het begrip 'chimeer' wordt niet genoemd.

Onderbouwing:

Er zijn geen experimentele gegevens aangeleverd over het laag pathogene karakter van de te gebruiken virusstam.

Conclusies:

- Er is op dit moment geen overtuigend bewijs om de influenza A/HongKong/1/68 virusstam (HKMA20-C) als laag pathogeen te classificeren.
- Werkzaamheden moeten worden uitgevoerd onder ML-III inperking.
- De aanvullende voorschriften voor ML-III uit CGM/061214-01 worden herhaald.

Opmerkingen:

Door de specifieke focus van dit advies op de pathogeniteit van de gebruikte stam blijven enkele aspecten (tropisme en verspreiding) onderbelicht.

Influenza B virus

43. [CGM/130424-01](#) (2013-04-24)

Reassortanten van *Influenza B* virus.

Betreft: Met behulp van reverse genetics worden reassortanten van *Influenza B* virus (FLUBV) gemaakt. Het is de bedoeling om de geproduceerde virussen als geïnactiveerd vaccin te gebruiken.

De reassortanten tussen verschillende *Influenza B* virussen die worden gemaakt worden (deels) beschreven. Er zullen mutaties worden aangebracht die ook van nature voorkomen en er zullen mutaties worden aangebracht in de oppervlakte-eiwitten HA en NA, met het doel de epitopen van de virussen in kaart te brengen.

Chimere aspecten: Er wordt niet gesproken van chimere virussen, maar het gaat om reassortanten, vergelijkbaar met reassortanten die in het kader van adviezen over *Influenza A* virus chimeer worden genoemd.

Onderbouwing:

Influenza B virus behoort tot pathogeniteitsklasse 2, vandaar de inschaling op ML-II.

Er wordt ingegaan op de mogelijkheid dat de vorming van reassortanten en het aanbrengen van mutaties die ook in de natuur voorkomen, zou kunnen leiden tot verhoging van de fitness van de betreffende virussen. De mutaties die worden aangebracht voor epitope mapping worden daarbij uitgesloten van die redenatie.

De vaccinatie van medewerkers wordt geadviseerd om te voorkomen dat zij drager zijn van wildtype influenzavirussen en er vervolgens reassortment optreedt tussen een wildtype influenzavirus en een gg-influenzavirus. Daarbij wordt verwezen naar het advies CGM/061214-01, voor de aspecten van vaccinatie. Er wordt een alternatief gegeven voor vaccinatie, maar de voorkeur wordt gegeven aan vaccinatie, 'omdat dit ook bescherming biedt bij andere werkzaamheden met influenzavirussen.'

Conclusies:

- De kans dat er bij de voorgenomen werkzaamheden FLUBV zal ontstaan met een hogere fitness dan die van nature circulerende stammen wordt verwaarloosbaar klein geacht.
- De voorgenomen productie van gg-FLUBV kan op ML-II inperkingsniveau uitgevoerd worden.



- Aanvullende voorschriften:
 - Vaccinatie van medewerkers.
 - Wanneer medewerkers niet gevaccineerd (kunnen) worden en zij werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau uitvoeren, wordt het dragen van een mondkapje (Europees CE gecertificeerd EN143 P2 of EN149 FFP2) geadviseerd.

Opmerkingen:

De reassortanten tussen verschillende influenza B virussen die worden gemaakt worden (deels) beschreven.

In de risicoanalyse wordt niet ingegaan op de mogelijke effecten van de mutaties die worden aangebracht voor epitope mapping.

Het vaccinatie voorschrift is onvolledig, zie hierover ook de bespreking van de adviezen over *Influenza A* virus. Het is opvallend dat vaccinatie alleen wordt geadviseerd, niet verplicht gesteld zoals dat bijvoorbeeld gebeurt in CGM/061214-01, waarnaar verwezen wordt.

Er wordt ook niet op ingegaan waarom de andere aanvullende voorschriften die in CGM/061214-01 worden gesteld, hier niet van toepassing zijn.

Lentivirussen

Het advies [CGM/140317-01](#) (2014-03-17), Classificatie van twee lentivirussen van kleine herkauwers, wordt vermeld omdat de term chimeer er in voor komt. Het gaat hierbij echter om een spontaan ontstaan chimeer bij geiten geïnfecteerd met twee lentivirussen. Het advies wordt niet in de overwegingen van dit rapport betrokken.

Aanvullende maatregelen niet duidelijk gespecificeerd.

Lyssavirussen

44. [CGM/101109-03](#) (2010-11-09)

Classificatie van drie Lyssavirussen

Betreft: Classificatie van het *Rabies virus* (RABV), het *Mokola virus* (MOKV) en het *Duvenhage virus* (DUVV) en inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met replicatiecompetente, gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV vectoren.

Chimere aspecten: er worden chimere gg-RABV, gg-MOKV en gg-DUVV geconstrueerd waarbij de individuele genen coderend voor het N-, P-, M-, G- of L-eiwit tussen bovengenoemde lyssavirussen uitgewisseld worden. De chimeren zullen niet meer dan één gen van een ander genotype bevatten.

Onderbouwing:

Alle drie de virussen zijn op basis van de ernst van de ziekten ingeschaald in pathogeniteitsklasse 3.

Het G-eiwit, in mindere mate de N-, P- en M- eiwitten, spelen een belangrijke rol in pathogeniteit van virus. Hoewel een verhoogde pathogeniteit niet kan worden uitgesloten na introductie van - met name - RABV genen, is het door de vergelijkbare biologische karakteristieken niet aannemelijk dat de pathogeniteit dusdanig wordt verhoogd dat de chimere virussen omhoog moeten worden geschaald naar pathogeniteitsklasse 4.

Conclusies:

- Werkzaamheden met de chimere virussen worden ingeschaald op ML-III, met de volgende aanvullende voorschriften:
 - Vaccinatie van alle medewerkers tegen lyssavirus
 - Open handelingen dienen uitgevoerd te worden in een veiligheidskabinet van klasse II;
 - Het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is verplicht;
 - Het gebruik van 'sharps' moet tot een minimum worden beperkt en is alleen toegestaan in combinatie met het gebruik van kevlarhandschoenen.
- Werkzaamheden met proefdieren in associatie met de chimere virussen dienen plaats te vinden op DM-III inperkingsniveau, met de volgende aanvullende voorschriften:
 - Dieren dienen te worden gehuisvest in een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd;
 - Het gebruik van 'sharps' dient tot een minimum te worden beperkt en is alleen toegestaan in combinatie met het gebruik van kevlarhandschoenen
 - Vaccinatie van alle medewerkers tegen lyssavirus verplicht.

Opmerkingen:

In de samenvatting wordt gesteld dat de COGEM kan instemmen 'dat de voorgenomen kloneringswerkzaamheden van volledige wildtype of chimere lyssavirus genomen op ML-II niveau uitgevoerd worden'. Omdat niet wordt aangegeven over welk systeem het hier gaat, i.e., clonering in *E. coli* of in animale cellen, kan wordt niet duidelijk wat de consequenties van de cloneringswerkzaamheden kunnen zijn, i.e., of er virusdeeltjes kunnen worden gevormd of niet.

Measles virus**45. [CGM/121206-01](#) (2012-12-06)**

Advies productie van *gg-Measles virus* met heterologe oppervlakte-eiwitten

Betreft: wijzigingsverzoek voor de productie van vaccinvectoren gebaseerd op *gg-Measles virus*. De COGEM heeft echter niet eerder advies uitgebracht over de inschaling van de werkzaamheden.

Chimere aspecten: *gg-Measles virus* waarbij één of beide oppervlakte-eiwitten van het *Measles virus* (F en/of H) zijn vervangen door de oppervlakte-eiwitten van het *Human respiratory syncytial virus* (HRSV) of het *Mumps virus*. Deze recombinant chimere *Measles viruses* zullen geconstrueerd worden op basis van de levend-verzwakte Edmonston-Zagreb vaccinstam. De volgende chimeren worden geproduceerd en als zodanig benoemd:

1. een *gg-Measles virus* waarbij de coderende sequentie voor het H-eiwit is vervangen door de sequentie van het HN-eiwit van het *Mumps virus*,
2. een *gg-Measles virus* waarbij de sequenties van het F en H-eiwit zijn verwijderd en vervangen door de sequentie van het HRSV-F eiwit.
3. een *gg-Measles virus* waarbij alleen de sequentie van het F-eiwit van het *Measles virus* is vervangen door de sequentie van het HRSV-F eiwit.

Onderbouwing:



- De mutaties die leiden tot verzwakking van het vaccivirus zijn aanwezig over het gehele genoom waardoor er wijzigingen zijn in bijna alle acht eiwitten van het virus, met uitzondering van het F-eiwit
- De H en F-eiwitten zijn belangrijke determinanten van het tropisme van het *Measles virus*.

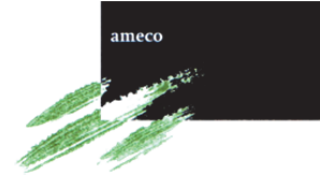
Chimere virussen:

- Het is onwaarschijnlijk dat door vervanging van het H-eiwit de (gehele) attenuering van de EZ-stam teniet wordt gedaan. In het theoretische geval dat dit wel gebeurt, zal het virus niet meer pathogeen worden dan het wild-type *Measles virus*.
- Bij het virus worden de sequenties van het F en H-eiwit zijn vervangen door de sequentie van het HRSV-F eiwit. Door het ontbreken van het H-eiwit wordt de primaire binding aan de gastheercel verstoord. Dit zal de infectie-*efficiëntie* hoogstwaarschijnlijk verminderen. Eerdere experimenten tonen aan dat gg-HRSV zonder G-eiwitten, geattenuerd is. Dit G-eiwit zorgt evenals het H-eiwit voor verankering aan de gastheercel. Op basis van deze gegevens kan worden aangenomen dat het chimere *Measles virus* geattenuerd blijft.
- Door aanwezigheid van het H-eiwit behoudt het virus zijn primaire bindingsmogelijkheid met de SLAM en CD46 receptoren. Het fusie-eiwit zal alleen betrokken zijn bij de snelheid van opname in de gastheercel. Dit zal hooguit van invloed zijn op de infectie-*efficiëntie*. Er treedt daarom vermoedelijk geen tropisieverandering op. Alle mutaties die verantwoordelijk zijn voor attenuering van het virus blijven behouden. Het F-eiwit is het enige eiwit in de EZ-stam dat geen mutaties bevat en derhalve niet betrokken is bij attenuering. Vervanging van dit eiwit zal daarom waarschijnlijk niet van invloed zijn op de attenuering van het chimere *Measles virus*.

Conclusies:

- Vervanging van sequentie voor het H-eiwit van *Measles virus* door de sequentie van het HN-eiwit van het *Mumps virus* zal niet leiden tot (volledige) tenietdoening van de attenuering van het vaccin.
- Gezien de eigenschappen van de betrokken eiwitten is de COGEM van mening dat ook de chimere virussen uit de tweede en derde combinatie geattenuerd blijven.
- Productiewerkzaamheden op ML-II inperkingsniveau met de volgende aanvullende voorschriften:
 - open handelingen dienen in een veiligheidskabinet van klasse-II uitgevoerd te worden;
 - het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is verplicht.
- De vaccinatie-experimenten in muizen kunnen worden uitgevoerd op DM-II niveau, met de volgende aanvullende voorschriften:
 - de dieren worden gehuisvest in filtertopkooien;
 - het dragen van handschoenen tot over de mouw van de werkkleding is verplicht;
 - open handelingen, waaronder alle handelingen waarbij een besmette filtertopkooi geopend wordt, dienen in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd te worden.
- Medewerkers moeten BMR-gevaccineerd zijn conform de richtlijnen.

Opmerkingen:



Geen.

Mond- en Klauwzeer Virus (MKZV)

46. [CGM/060711-01](#) (2006-07-11)

Inschaling werkzaamheden met gg *Mond-en-klauwzeervirus*.

Betreft: Van MKZ zijn verschillende typen bekend die hoog of laag pathogeen zijn. Er wordt een 'infectieuze kloon' gemaakt van hoogpathogeen MKZ, waarvan infectieus genomisch RNA kan worden geproduceerd. Genen van deze kloon worden uitgewisseld met genen afkomstig uit andere MKZ typen en de recombinante virussen worden getest in bioassays op dierlijke cellen.

Chimere aspecten: In de gevormde virussen zijn genen uitgewisseld tussen verschillende typen van het zelfde virus. Deze virussen worden in het advies 'chimeer' genoemd.

Onderbouwing:

De onderbouwing gaat vooral in op de vraag of de handelingen moeten worden uitgevoerd op ML-IV niveau, wat eigenlijk de regel zou zijn op basis van de pathogeniteitsklasse 4 van het MKZ virus. Er wordt beargumenteerd dat het ML-III niveau voldoende inperking biedt, als daarbij aanvullende voorschriften in acht worden genomen.

Over het chimere karakter wordt gezegd dat 'de pathogeniteit e.d. van het chimere virus zich zal bevinden binnen de bandbreedte van de karakteristieken van wildtype MKZ-virussen'.

Conclusies:

- De voorgenomen werkzaamheden met infectieus gg MKZV kunnen op ML-III niveau worden uitgevoerd;
- Daarbij moeten aanvullende en gewijzigde werk- en inrichtingsvoorschriften worden toegepast, zoals vermeld in bijlage 2 van het voorstel tot inschaling van het ministerie.

Opmerkingen:

Voor de aanvullende voorschriften wordt slechts verwezen naar wat daarover is gesteld door de vergunningverlener, dit maakt het lastig het advies op zich zelf staand te beoordelen.

Orbivirussen

47. [CGM/100712-05](#) (2010-07-12)

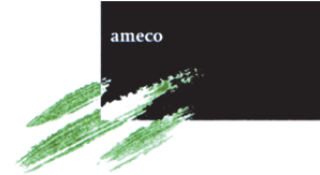
Classificatie en inschaling werkzaamheden Orbivirussen

Betreft: classificatie van enkele virussen uit het genus *Orbivirus* en het inperkingsniveau waarop *in vitro* en *in vivo* werkzaamheden met gg Orbivirussen ingeschaald dienen te worden. Er worden reverse genetics systemen ontwikkeld voor *Afrikaanse Paardenpestvirus* (AHSV), *Enzootische haemorrhagische ziekte virus* (EHDV), *Equine encephalose Virus* (EEV), *Toggenburgvirus* (TOV) en een orbivirusisolaat uit Alpaca.

Chimere aspecten: chimeer genoemd in advies.

Onderbouwing:

Het is onwaarschijnlijk dat cellijnen complementerende Orbivirussen of Orbivirussequenties bevatten. Werkzaamheden waarbij deze defecte Orbivirus genomen tot expressie worden gebracht dienen daarom uit te worden gevoerd op ML-II niveau zonder aanvullend voorschrift. Gezien de breedte van de aangevraagde vergunning en het ontbreken van informatie over twee recent aangetroffen Orbivirussen (TOV en Alpaca virus) is het onvoldoende onderbouwd



dat het ontstaan van een gg-Orbivirus dat andere animale (waaronder humane) cellen kan infecteren, uitgesloten is. Ook kan niet worden uitgesloten dat een mutant Orbivirus ontstaat dat replicatiecompetent is in apencellen. De stap naar een replicatiecompetent gg-Orbivirus dat humane cellen kan infecteren is dan relatief klein.

Conclusies:

- AHSV, EHDV, EEV en TOV zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.
- Over het Alpacavirus is te weinig bekend om het te kunnen indelen.
- Alle *in vitro* werkzaamheden met gg-orbivirussen dienen te worden uitgevoerd op niveau ML-III met als aanvullend voorschrift
 - open handelingen dienen te worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van tenminste klasse 2.
- Alle *in vivo* werkzaamheden dienen te worden uitgevoerd op niveau DM-III, met aanvullende maatregel dat maatregelen worden getroffen die de aanwezigheid van knutten in de high containment unit voorkomen

Opmerkingen:

Geen.

Paramyxovirussen

48. [CGM/140404-01](#) (2014-04-04)

Uitwisseling van de oppervlakte eiwitten tussen aviaire en paramyxovirussen

Betreft: Inschaling van werkzaamheden met een vaccinstam van het *Newcastle disease virus* waarbij de oppervlakte eiwitten worden vervangen met *Avian paramyxovirus (APMV)-3, -6 en -8*.

Chimere aspecten: de oppervlakte eiwitten HN en F van de Newcastle disease virus (NDV) vaccinstam Clone-30 worden vervangen door de HN en F eiwitten van respectievelijk *Avian paramyxovirus (APMV)-3, -6 en -8*. Het ggo wordt in het advies gekarakteriseerd als chimeer.

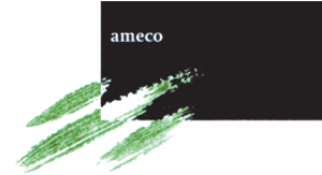
Onderbouwing:

Het velogene NDV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3. De lentogene vaccinstam NDV Clone-30 kent een lange historie van veilig gebruik. Alle NDV stammen, waaronder ook de lentogene vaccinstam Clone-30, kunnen conjunctivitis veroorzaken bij de mens. NDV heeft een groter gastheerbereik dan APMV-3, -6 en -8. In de wetenschappelijke literatuur zijn geen aanwijzingen dat APMV-3, -6 en -8 ziekte kunnen veroorzaken bij de mens. APMV-3, -6 en -8 zijn ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.

Uitwisseling met de F en HN genen van APMV-3 zou de virulentie van Clone-30 kunnen verhogen. Echter, de COGEM verwacht niet dat een dergelijk recombinant virus een hogere virulentie zal hebben dan wildtype APMV-3, dat geclassificeerd is als een klasse 2 pathogeen. Bovenstaande in overweging nemende acht de COGEM de kans zeer klein dat bij de voorgenomen werkzaamheden een virus zal ontstaan dat virulenter is dan wildtype APMV-3, -6 en -8.

Conclusies:

- Gebaseerd op een lange geschiedenis van veilig gebruik van de gebruikte uitgangsstam kunnen de experimenten op ML-II inperkingsniveau worden uitgevoerd.



- Aangezien de vaccinstam conjunctivitis kan veroorzaken en zowel de vaccinstam als de APMV's via de aërogene route (aërosolen) overgedragen kunnen worden, zijn er aanvullende voorschriften:
 - het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;
 - open handelingen worden in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd.Als aanvulling op deze voorschriften geldt voor handelingen met geïnfecteerde eieren bovendien:
 - de geïnfecteerde eieren worden in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof bebroed;
 - de dozen worden uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-II geopend en bij eventuele breuk van een ei wordt de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd.
- Werkzaamheden kunnen worden uitgevoerd worden op DM-III inperkingsniveau met de volgende inperkende voorschriften:
 - het dragen van handschoenen, een mond- en neuskapje (P2 of hogere specificatie) en een beschermende bril is verplicht;
 - in de werkruimte moet ander schoeisel worden gedragen. Dit schoeisel wordt na afloop van de werkzaamheden in de werkruimte achtergelaten.

Opmerkingen:

Geen.

Phlebovirus

49. [CGM/110322-01](#) (2011-03-22)

Inschaling werkzaamheden *Rift Valley fever virus* (RVFV).

Alleen de samenvatting van dit advies is openbaar gemaakt.

Betreft: De aanvrager wil infectieus niet-spreidend gg RVFV produceren dat als basis kan dienen voor het ontwikkelen van combinatievaccins.

Chimere aspecten: Het gg-RVFV deeltje wordt gecombineerd met (glyco)proteïnen van het *Influenza A virus*, *Peste-des-petits-ruminants virus* (PPRV), *Vesicular stomatitis virus* (VSV) of *Criméan-Congo hemorrhagic fever virus* (CCHFV) of daarvan afgeleide mutanten.

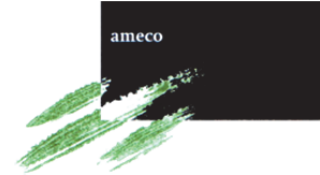
Onderbouwing: De COGEM kan niet uitsluiten dat tijdens de productie van niet-spreidend gg-RVFV vol-virulent gg-RVFV gevormd wordt.

Conclusies: RVFV is geclassificeerd als klasse 3 pathogeen. Omdat de COGEM niet kan uitsluiten dat tijdens de productie van niet-spreidend gg-RVFV vol-virulent gg-RVFV gevormd wordt, adviseert zij de productie uit te voeren onder ML-III inperking.

Handelingen met proefdieren in associatie met niet-spreidend en spreidend (gg-) RVFV adviseert de COGEM uit te voeren onder DM-III inperking onder het aanvullende voorschrift dat medewerkers volledig beschermende kleding en een volgelaat masker dragen zoals beschreven in de aanvraag. Daarbij dient het masker aan aanvullende specificaties te voldoen.

Opmerkingen: alleen de samenvatting van dit advies is openbaar gemaakt; over de consistentie in onderbouwing binnen het advies kan hier daarom niets gezegd worden.

50. [CGM/120716-02](#) (2012-07-16)



Inschaling van werkzaamheden met gg *Rift Valley fever* virus.

Alleen de samenvatting van dit advies is openbaar gemaakt.

Betreft: De aanvrager verzoekt de productie van infectieuze niet-spreidende gg-RVFP virusdeeltjes op ML-II inperkingsniveau uit te mogen voeren.

Chimere aspecten: In verband met de mogelijke toepassing als vaccin worden RVFP virusdeeltjes uitgerust met een zogenaamd minigenoom dat codeert voor een deel van een eiwit van het *Influenza A* virus of voor het fluorescerende reporter eiwit eGFP.

Onderbouwing:

In de openbaar gepubliceerde samenvatting van het advies wordt de beslissing van de COGEM als volgt onderbouwd: 'De COGEM vindt het essentieel dat er tijdens de productie van de gg-RVFP virusdeeltjes geen vol-virulent replicerend RVFP kan ontstaan. Onder navolging van enkele aanvullende voorschriften om onbedoelde introductie van onder andere het ontbrekende genoomsegment te voorkomen, acht de COGEM de kans op vol-virulent replicerend RVFP verwaarloosbaar klein en adviseert zij de beschreven werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau in te schalen. Op dit inperkingsniveau en met de aanvullende voorschriften acht de COGEM de risico's bij de productie van beschreven gg-RVFP virusdeeltjes voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.'

Conclusies: RVFP is geclassificeerd als klasse 3 pathogeen. Onder navolging van enkele aanvullende voorschriften om onbedoelde introductie van onder andere het ontbrekende genoomsegment te voorkomen, acht de COGEM de kans op vol-virulent replicerend RVFP verwaarloosbaar klein en adviseert zij de beschreven werkzaamheden op ML-II inperkingsniveau in te schalen.

Opmerkingen: alleen de samenvatting van dit advies is openbaar gemaakt; over de consistentie in onderbouwing binnen het advies kan hier daarom niets gezegd worden.

Vacciniavirussen, MVA

51. [CGM/061012-01](#) (2006-10-12)

Fase I klinische studie met een gg MVA virus gericht tegen HIV-B.

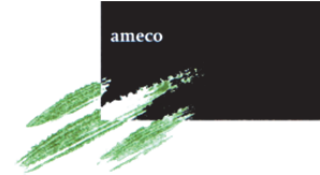
Betreft: Het gaat om een fase I klinische studie. Een MVA vector waarin de HIV-B genen *gag*, (een gedeelte van) *pol*, *nef* en *env* zijn geplaatst, achter een synthetische early/late promotor waarvan de herkomst van de informatie op basis waarvan de promotor is gesynthetiseerd, niet wordt vermeld.

Chimere aspecten: De term 'chimeer' wordt niet vermeld, maar het virus voldoet aan de criteria van een chimeer virus, en wordt in het advies besproken in lijn met wat voor de beoordeling van een chimeer virus nodig is.

Onderbouwing:

De MVA vector is reeds in een eerder advies ingedeeld in de laagste pathogeniteitsklasse; de redenen voor deze indeling worden hier herhaald.

De kans dat de insertie van HIV genen een verandering veroorzaakt in de pathogene eigenschappen van MVA worden verwaarloosbaar geacht klein gezien de grote biologische verschillen tussen het vector- en het donovirus. Dit wordt onderbouwd met het gegeven dat HIV is een RNA virus is dat replicateert in de kern van een cel, terwijl MVA behoort tot de DNA virussen en replicateert in het cytoplasma. De additionele synthetische early/late promotor wordt



geacht geen risico te vormen. Deze promotor reguleert de expressie van de transgenen en het is zeer onwaarschijnlijk dat de promotor een effect heeft op de flankerende MVA genen.

Conclusies:

- Wanneer de voorschriften en instructies zoals beschreven in het dossier gehandhaafd worden, zijn de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein bij het gebruik van een MVA-HIV-B vaccin.
- Als aanvullend voorschriften wordt geadviseerd om waterbestendige pleisters te gebruiken en om de deelnemers hygiëne-instructies te geven over het zelf verwijderen van de pleisters op het moment dat dat voorzien is in de studie.
- Er worden door de aanvrager uitgebreide veiligheidsvoorschriften genoemd:
 - De injectieplaats wordt na vaccinatie gedesinfecteerd met alcohol.
 - Tien minuten later wordt de injectieplaats afgeplakt met een pleister welke minimaal 24 uur dient te blijven zitten.
 - De proefpersonen verblijven gedurende twee uur op de onderzoekseenheid.
 - De arts die het vaccin toedient, draagt ter bescherming een wegwerpjas, handschoenen, een chirurgisch mondmasker en een OK-muts, alsmede een beschermbril en oversloffen om de schoenen.
 - Tijdens de vaccinatie kan de deelnemer liggen of zitten. Het bed of de stoel worden afgedekt met een disposable laken. Daarnaast draagt de deelnemer een disposable jas, waarbij een gat wordt geknipt ter plaatste van de injectieplaats. Het is ook mogelijk om de huid rond de injectieplaats af te dekken met OK-doeken.

Opmerkingen:

Het valt op dat de gebruikte promotor hier wordt genoemd en –globaal- bediscussieerd. De beschouwingen over zijn herkomst en specifieke functie, en over de eventuele gevolgen van de interactie met flankerende MVA genen die op zou kunnen treden ontbreken.

Zie ook het advies CGM/081106-01 over een NYVAC stam waarin de zelfde HIV genen zijn geplaatst.

De rol van *env* bij het gastheertropisme van HIV wordt genoemd, maar niet bediscussieerd voor het chimere virus.

52. [CGM/120625-01](#) (2012-06-25)

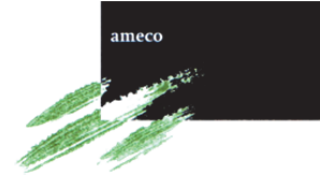
Klinische studie met gg Modified vaccinia virus Ankara vaccin dat codeert voor het Hemagglutinine van *Influenza A* virus.

Betreft: Een fase I klinische studie met een gg MVA, MVA-HA, met de coderende sequentie voor het hemagglutinine (HA) gen van het *Influenza A* virus. In principe zullen de HA genen van alle 16 *Influenza A* virus subtypen worden gebruikt, maar de gg-MVA-HA vectoren coderen echter slechts één van de verschillende HA genen tegelijkertijd en de verschillende gg-MVA-HA vectoren zullen niet gecombineerd worden.

Chimere aspecten: Het begrip chimeer komt niet voor in het advies, maar de gebruikte virussen voldoen aan de definitie van een chimeer virus.

Onderbouwing:

Er wordt verwezen naar eerdere adviezen, waaronder het hiervoor behandelde advies CGM/061012-01.



In de samenvatting van het advies wordt de pathogeniteitsklasse 3 van het donor virus Influenza A vermeld, maar in de tekst van het advies wordt daaraan niet meer gerefereerd. Er wordt uitgebreid ingegaan op de eigenschappen van het HA eiwit van Influenza virus en op de kans dat het eiwit in de membraan van MVA terecht zal komen, wat onwaarschijnlijk wordt geacht. Zelfs als het erin terecht zal komen zal het waarschijnlijk geen effect hebben op het tropisme van MVA, dat al erg breed is.

Conclusies:

- De toevoeging van de coderende sequentie van HA aan MVA heeft geen invloed op de (a)pathogeniteit van MVA.
- De kans dat er door recombinatie andere ggo's kunnen ontstaan wordt verwaarloosbaar klein geacht.
- Onder navolging van de beschreven managementmaatregelen is de kans verwaarloosbaar klein dat het ggo in het milieu uitgescheiden wordt.
- Beschreven maatregelen zijn:
 - De injectieplaats wordt afgedekt met een waterbestendige pleister.
 - Deze wordt 24 uur later verwijderd door de proefpersonen, gedesinfecteerd en in een afgesloten zakje bij het huisafval gedeponeerd. De injectieplaats zal vervolgens worden ontsmet met 70% alcohol en de handen worden gewassen.
- De aanvrager heeft geen experimentele onderbouwing aangeleverd van de moleculaire samenstelling van de te testen gg-MVA-HA vaccins. Er is aanvullende informatie nodig om tot een eindoordeel te kunnen komen.

Opmerkingen:

Er is een verschil tussen de mate van detail van de aanvullende voorschriften die hier worden gegeven en die in CGM/061012-01.

De in de expressiecassette gebruikte synthetische promotor en de wijze waarop deze wordt gereguleerd worden genoemd, maar verder niet in de discussie betrokken.

53. [CGM/120928-01](#) (2012-09-28)

Aanvullende informatie klinische studie met gg-MVA-HA vaccin

Betreft: Klinische studie met een vaccin (gg-MVA-HA) bestaande uit een gg Modified Vaccinia virus Ankara dat codeert voor het zogenaamde hemagglutinine (HA) eiwit van het griepvirus. De aanvrager verzoekt hierbij alle van nature voorkomende HA varianten te mogen gebruiken.

Chimere aspecten: gg-MVA met influenza A genomsegmenten die coderen voor hemagglutinine (HA): H1, H2, H3, H5, H7, H9. Virus wordt niet als 'chimeer' benoemd, maar voldoet wel aan de definitie.

Onderbouwing:

Het advies is een aanvulling op het eerdere advies CGM/120625-01.

Conclusies:

- Aanvullende informatie betreffende moleculaire karakterisering toont aan geproduceerde gg-MVA-HA komt overeen met verwachte ggo.
- Voor productie met de andere HA varianten moeten dezelfde gegevens beschikbaar zijn voor de inspectie.

Opmerkingen:

Geen

Vacciniavirussen, NYVAC

54. [CGM/080721-03](#) (2008-07-21)

Inschaling van werkzaamheden met NYVAC-C mutanten.

Betreft: Handelingen met de NYVAC vaccinstam, deletiestammen van NYVAC en een NYVAC stam waarin genen van *Vaccinia virus* zijn teruggeplaatst, waarin 'een deel van het HIV-1 genoom' is geplaatst. Welk deel in de stammen is gezet wordt niet beschreven.

Chimere aspecten: In het advies wordt niet ingegaan op het chimere karakter van de gebruikte virusstammen, maar uit de beschrijving kan worden opgemaakt dat het hier wel om een chimeer virus gaat, aangezien 'een deel van het HIV-1 genoom' in de NYVAC stammen is gezet.

Onderbouwing:

In de onderbouwing wordt uitgebreid ingegaan op de aspecten van de pathogeniteit van de gebruikte NYVAC stammen. Deze overwegingen hebben geen betrekking op het chimere karakter van de stammen en laten we hier verder buiten beschouwing. De uit deze overwegingen voortkomende conclusies hebben wij volledigheidshalve wel hierboven opgenomen.

Conclusies:

De conclusies hebben alleen betrekking hebben op de aspecten van de gebruikte virussen als NYVAC stammen, niet op de gg aspecten; zie ook de opmerkingen bij de onderbouwing.

- NYVAC en deltiemutanten van NYVA kunnen onder ML-I worden gebruikt.
- NYVAC stammen waarin eerder uit NYVAC verwijderde genen zijn teruggebracht, moeten onder ML-II worden gebruikt.
- Aanvullende voorschriften:
 - Er mogen geen medewerkers bij de werkzaamheden betrokken zijn waarvan bekend is dat zij:
 - zwanger zijn;
 - geen goed functionerend immuunsysteem hebben.
 - Handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse II uitgevoerd te worden of men dient neus-, mondmasker en veiligheidsbril te dragen.
 - Tijdens de handelingen dient men handschoenen te dragen.

Opmerkingen:

In het advies wordt niet ingegaan op overwegingen die voort zouden kunnen vloeien uit de aanwezigheid van een, overigens niet verder gekarakteriseerd, deel van het HIV-1 genoom.

55. [CGM/081106-01](#) (2008-11-06)

Fase II klinische studie met een gg vacciniavirus als vaccin tegen HIV-B.

Betreft: Het gaat om een fase II klinische studie die grote gelijkenis vertoont met de studie in CGM/061012-01. In die studie werd een MVA vector gebruikt, in dit geval gaat het om een eveneens van *Vaccinia virus* afgeleide NYVAC vector. In beide gevallen gaat het om een zelfde construct van HIV-B dat in de virussen is geplaatst, en de genen *gag-pol-nef* en *env* omvat, geplaatst achter een synthetische early-late promoter.

Chimere aspecten: chimere karakter wordt niet benoemd, het gaat om een NYVAC vector waarin HIV-B de genen gag-pol-nef en *env* worden geplaatst.

Onderbouwing

De onderbouwing volgt de onderbouwing die gegeven is in CGM/061012-01.

Conclusies:

De conclusie is in lijn met de conclusie van CGM/061012-01:

- Wanneer de voorschriften en instructies zoals beschreven in het dossier en in dit advies gehandhaafd worden, de risico's van voorgenomen gebruik van het NYVAC-B vaccin voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.
- In het advies wordt ingegaan op hygiënische maatregelen die de proefpersoon moet nemen bij het verwijderen van de waterbestendige pleister op de vaccinatieplek.
- De aanvrager voornemens is het gebruik van oogbescherming en een mondneusmasker bij het toedienen van het vaccin achterwege te laten; dit wijkt af van de gehanteerde procedure voor de eerdere klinische studie met MVA-HIV-B. Er wordt aangeraden deze beschermingsmiddelen wel te gebruiken.

Opmerkingen:

De bij de bespreking van CGM/061012-01 gemaakte opmerking over de early-late promoter is hier ook van toepassing.

Voor de aanvullende voorschriften wordt verwezen naar het dossier, maar ze worden niet (volledig) geciteerd.

Het zou duidelijker zijn geweest als de opmerking, dat het gebruik van oogbescherming en het mondneusmasker niet zoals de aanvrager voorstelt achterwege gelaten moet worden, in de conclusie wordt herhaalt.

Vesicular stomatitis virus

56. [CGM/110815-03](#) (2011-08-15)

Classificatie van *Vesicular stomatitis virus*

Betreft: classificatie van het *Vesicular stomatitis virus* (VSV) en inschaling van werkzaamheden met gg VSV vectoren. Het gaat om een wijziging van de vergunning IG 10-015 met de titel 'Vervaardiging van recombinante VSV-virussen gepseudotypeerd met virale fusie-eiwitten en het gebruik hiervan in virus-cell entry studies'.

Chimere aspecten: Chimeer genoemd in advies. De coderende sequentie voor het endogene G-eiwit wordt vervangen door de sequenties van virale fusie-eiwitten afkomstig uit Influenzavirus A, coronavirussen, rhabdovirussen, paramyxovirussen, bunyavirussen, Nairovirus, Hantavirus en baculovirussen.

Onderbouwing:

VSV wordt in dit advies geclassificeerd als een klasse 3 dierpathogeen. Bij gebrek aan onderbouwing voor omlaagschaling dienen werkzaamheden met infectieuze virusdeeltjes te worden uitgevoerd op ML-III inperkingsniveau.

Conclusies:

- Er wordt gebruik gemaakt van een VSV stam Indiana – San Juan, Voor deze stam is onvoldoende onderbouwing om hem in te delen in een lagere pathogeniteitsklasse.
- Werkzaamheden dienen te worden uitgevoerd op inperkingsniveau ML-III.

- De aanvrager merkt op dat handelingen met replicatiecompetent virus in een ML-II veiligheidskabinet zullen worden uitgevoerd.
- Bureau GGO stelt voor hierbij handschoenen tot over de mouw van de werkkleding verplicht te stellen.

Opmerkingen:

De donorgenen omschreven als 'sequenties van virale fusie-eiwitten afkomstig uit Influenzavirus A, coronavirussen, rhabdovirussen, paramyxovirussen, bunyavirussen, Nairovirus, Hantavirus en baculovirussen', maar de genen worden verder niet gekarakteriseerd.

De aanvullende voorschriften worden niet herhaald in de conclusie, er wordt gesteld dat ingestemd wordt met de voorgestelde maatregelen. De voorstellen komen van twee kanten. Het zou duidelijker zijn als de voorschriften herhaald zouden worden.

57. [CGM/120417-02](#) (2012-04-17)

Inschaling van onderzoek naar Ebolavirus en Marburgvirus infecties met gg VSIV

Betreft: Werkzaamheden met gg Vesicular stomatitis Indiana virussen (gg-VSIVs) die in plaats van het VSIV manteleiwit, het manteleiwit van het Ebolavirus of het Marburgvirus bevatten.

Chimere aspecten: in het gg-VSIV wordt het gen dat codeert voor de virale glycoproteïne vervangen door een sequentie die codeert voor het glycoproteïne van het Ebolavirus of het Marburgvirus. Het gg wordt als chimeer benoemd in het advies.

Onderbouwing:

VSV is geclassificeerd als een klasse 3 dierpathogeen, omdat de consequenties van een ontsnapping naar het milieu aanzienlijk kunnen zijn. Op basis van literatuur kan niet worden geconcludeerd dat het gg-VSIV geattenuëerd is en ziet de COGEM geen reden om deze classificatie te herzien.

Het gg-VSIV bestaat uit virus uit pathogeniteitsklasse 3 en een pathogeniteitsklasse 4 virus. Het tropisme van zowel VSIV als het Ebolavirus en het Marburgvirus worden (mede) bepaald door het glycoproteïne. Doordat het glycoproteïne van VSIV in het gg-VSIV is vervangen door die van hetzij Ebolavirus of Marburgvirus, wordt gesteld dat de gg-VSIV virussen door het glycoproteïne van hetzij het Ebolavirus, hetzij het Marburgvirus een beperkter tropisme zullen hebben dan het wild-type VSIV.

Doordat de gg-VSIV vermoedelijk alle celtypen van zoogdieren kan infecteren, en geen informatie beschikbaar is over de mogelijke aerogene verspreiding, kan niet worden uitgesloten dat het gg-VSIV koeien, paarden of varkens kan infecteren en zich onder deze dieren kan verspreiden.

Conclusies:

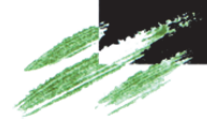
- ML-III inperkingsniveau, zonder aanvullende eisen.

Opmerkingen:

Het advies gaat volgens de zelfde lijnen als het advies op CGM/110815-03 waarbij de overwegingen over VSV stam Indiana worden herhaald.

Echter, in advies CGM/110815-03 ging het vooral om de aanvullende voorschriften. Nu wordt eenvoudig gezegd: "op inperkingsniveau ML-III en onder navolging van de op dit inperkingsniveau geldende werkvoorschriften is de COGEM van mening dat de risico's van de

voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.” Dat is niet consistent met het vorige advies.



Appendix A

Bijlage 4 bij de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (28 mei 1998): Fysische Inperking: Inrichtings- en Werkvoorschriften

Hier zijn alleen beschrijvingen opgenomen van de inperkingsniveaus die relevant zijn voor dit rapport:

Inperkingsniveaus voor microbiologische laboratoria (ML-I t/m ML-IV), voor dierverblijven waarin gewerkt wordt met micro-organismen (DM-I t/m DM-IV) en voor grootschalige toepassingen (MI-I t/m MI-IV).

4.1. Fysische inperking, werkvoorschriften en procedures

4.1.1 Laboratoria

4.1.1.1 De ML-I werkruimte

4.1.1.1.1 Inrichtingsvoorschriften ML-I

ruimte

- a. De werkruimte bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. De werkruimte wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een ML-I ruimte gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;

uitrusting

- c. Een autoclaaf is aanwezig op de locatie;
- d. Een wastafel en een dispenser voorzien van zeep zijn aanwezig in de werkruimte;
- e. In de werkruimte is een aparte kapstok voor werkkleding aanwezig;

overig

- f. Apparatuur is in deugdelijke staat.

4.1.1.1.2 Werkvoorschriften ML-I

algemeen

- a. De werkruimte wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde

organismen indien de werkruimte niet wordt gebruikt voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;

- f. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- g. Door morsen of ongevallen met genetisch gemodificeerde organismen besmette kleding wordt voor het wassen gesteriliseerd of gedesinfecteerd;
- h. Persoonlijke bezittingen waaronder kleding die niet gedragen wordt, worden buiten de werkruimte opgeborgen; tijdens werkzaamheden
- i. Tijdens de werkzaamheden zijn de deuren en de ramen van de werkruimte gesloten;
- j. Bij alle werkzaamheden worden het ontstaan en de verspreiding van aërosolen vermeden;
- k. Passende beschermende kleding wordt gedragen. Deze kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de werkruimte achtergelaten.

beëindigen werkzaamheden

- l. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- m. Bij het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep;

afval en besmet materiaal

- n. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- o. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd;

overig

- p. Indien gewerkt wordt met een bioreactor, dan:
 - 1° mag deze geen grotere effectieve inhoud hebben dan 100 liter;
 - 2° dient de bioreactor zo geconstrueerd te zijn dat de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen wordt beperkt;
 - 3° dient de bemonstering van de bioreactor, de toevoeging van materiaal aan de bioreactor en de overdracht van materiaal naar een ander systeem te geschieden zodanig dat de vorming en/of verspreiding van aërosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
 - 4° mag de lozing van de inhoud van de bioreactor pas geschieden nadat de eventueel aanwezige genetisch gemodificeerde organismen volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd;
- q. Bij gelijktijdige werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen moeten de ML-I werkvoorschriften in acht genomen worden;
- r. Planten en dieren, gemodificeerd en ongemodificeerd, die geen deel uitmaken van een experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn.

4.1.1.3 De ML-II werkruimte

4.1.1.3.1 Inrichtingsvoorschriften ML-II

ruimte

- a. De werkruimte bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te houden;

- b. De werkruimte wordt betreden via een afsluitbare deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een ML-II ruimte gaat;
 - 2° het biorisicoteken; en
 - 3° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- c. Ramen in de werkruimte kunnen niet geopend worden;

uitrusting

- d. Een autoclaaf is aanwezig in het gebouw;
- e. Een wastafel en een dispenser met zeep zijn dichtbij de uitgang van de werkruimte aanwezig, waarbij zowel de kraan van de wastafel als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat de handen daarbij gebruikt worden;
- f. In de werkruimte is een kapstok voor werkkleding aanwezig;
- g. Een veiligheidskabinet van klasse-II is in de werkruimte aanwezig;

overig

- h. Apparatuur is in deugdelijke staat.

4.1.1.3.2 Werkvoorschriften ML-II

algemeen

- a. De werkruimte wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. De toegang tot de werkruimte is op slot wanneer er geen personeel in de werkruimte aanwezig is;
- f. Toegang tot de werkruimte is verboden voor onbevoegden;
- g. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- h. Persoonlijke bezittingen waaronder kleding die niet gedragen wordt, worden buiten de werkruimte opgeborgen;
- i. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor uitsluitend ML-I-werkzaamheden volgens de onder 4.1.1.1 vermelde voorschriften of voor uitsluitend werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;
- j. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;

tijdens werkzaamheden

- k. Tijdens de werkzaamheden zijn de deuren van de werkruimte gesloten;
- l. Werkzaamheden waarbij aerosolen kunnen ontstaan worden in een veiligheidskabinet van klasse-II uitgevoerd;
- m. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;
- n. Passende beschermende kleding wordt gedragen. Deze kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de werkruimte achtergelaten;

beëindiging werkzaamheden

- o. De werktafelbladen worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- p. Bij het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal;
- q. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;

- r. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd; overig.
- s. Dieren en planten, gemodificeerd en ongemodificeerd, die geen deel uitmaken van een experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn;
- t. Huisvesting van dieren en planten is in de werkruimte niet toegestaan;
- u. Indien gewerkt wordt met een bioreactor, dan:
 - 1° mag deze geen grotere effectieve inhoud hebben dan 100 liter, en in de luchtafvoerleiding van de bioreactor is een hydrofoob absoluut-filter, of een daaraan gelijkwaardige voorziening, aanwezig;
 - 2° dient de bioreactor zo geconstrueerd te zijn dat de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen sterk wordt beperkt;
 - 3° dient de bemonstering van de bioreactor, de toevoeging van materiaal aan de bioreactor en de overdracht van materiaal naar een ander systeem te geschieden zodanig dat de vorming of verspreiding van aerosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
 - 4° mag lozing van de bioreactorinhoud pas geschieden nadat de eventueel aanwezige genetisch gemodificeerde organismen volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd;
- v. Alle werkzaamheden met dieren en planten worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van klasse- II- I
- w. Bij werkzaamheden met dieren is het dragen van handschoenen verplicht;
- x. Bij gelijktijdige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op ML-I niveau of werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen moeten de ML-II werkvoorschriften in acht worden genomen.

4.1.1.4 De ML-III werkruimte

4.1.1.4.1 Inrichtingsvoorschriften ML-III

ruimte

- a. De werkruimte bestaat uit een permanente structuur waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken, wanden en deuren bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmetting reagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. De werkruimte is voorzien vaneen afsluitbare toegangssluis voorzien van twee deuren. De twee deuren mogen niet gelijktijdig geopend kunnen worden;
- c. De sluis wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een ML-III ruimte gaat;
 - 2° het biorisicoteken; en
 - 3° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- d. De ramen in de werkruimte zijn afgekit, en kunnen niet geopend worden;
- e. De vloer is vloeistofdicht afgewerkt dan wel uitgevoerd;
- f. Het laboratorium is zodanig geconstrueerd dat desinfectie met behulp van gassen mogelijk is;
- g. Een ventilatiesysteem is aanwezig. Het zorgt voor een onderdruk van de werkruimte ten opzichte van de heersende atmosferische druk. De luchtafvoer is een onafhankelijk kanaal waarin een HEPA filter is aangebracht;
- h. Vacuümleidingen zijn voorzien vaneen hydrofoob absoluut-filter of vaneen gelijkwaardige voorziening;

uitrusting



- i. Een autclaaf is aanwezig en suite;
- j. Een wastafel en een dispenser met zeep zijn in de sluis aanwezig, waarbij zowel de kraan van de wastafel als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat de handen daarbij gebruikt worden;
- k. In de sluis is een kapstok voor werkkleding aanwezig;
- l. Een veiligheidskabinet van klasse-II is in de werkruimte aanwezig; overig
- m. Apparatuur is in deugdelijke staat.

4.1.1.4.2 Werkvoorschriften ML-III

algemeen

- a. De werkruimte wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. De toegang tot de werkruimte is op slot wanneer er geen personeel in de werkruimte aanwezig is;
- f. Uitsluitend direct bij de werkzaamheden betrokken medewerkers hebben toegang tot de werkruimten; anderen mogen deze slechts betreden met afzonderlijke schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- g. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- h. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris mag de werkruimte gedurende een periode van ten minste een maand worden gebruikt voor uitsluitend ML-II werkzaamheden volgens de onder 4.1.1.3 vermelde voorschriften. De periode waarvoor dit geldt is op de toegangsdeur aangegeven en de betrokken medewerkers zijn hierover vooraf geïnformeerd;
- i. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;

tijdens werkzaamheden

- j. Tijdens de werkzaamheden zijn de deuren van de werkruimte gesloten;
- k. Werkzaamheden waarbij aerosolen kunnen ontstaan worden in een veiligheidskabinet van klasse-II uitgevoerd;
- l. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;
- m. Passende beschermende kleding wordt gedragen. Deze kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten. Persoonlijke bezittingen en eigen kleding die niet onder de werkkleding wordt gedragen, blijven in de niet besmette zijde achter;
- n. Het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;

beëindigen werkzaamheden

- o. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- p. Voor het verlaten van het ingeperkte gebied worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal;
- q. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of een gelijkwaardige verpakking, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- r. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd;

overig

- s. Dieren en planten, gemodificeerd en ongemodificeerd, die geen deel uitmaken van een experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn;
- t. Huisvesting van dieren en planten is in de werkruimte niet toegestaan;
- u. Alle werkzaamheden met dieren en planten worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van klasse- II
- v. Bij gelijktijdige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op ML-II of ML-I nive.au of werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen moeten de ML-III werkvoorschriften in acht worden genomen. I

4.1.1.5 De ML-IV werkruimte

4.1.1.5.1 Inrichtingsvoorschriften ML-IV ruimte

ruimte

- a. De werkruimte bestaat uit een permanente structuur waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden, deuren en plafonds zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden deuren en plafond bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. Het laboratorium is voorzien van een afsluitbare toegangssluis;
- c. In de sluis is een douche aangebracht, die als enige doorgang is gelegen tussen een 'schone' en een ingeperkte kleedruimte. De schone en de ingeperkte ruimte staan in verbinding met elkaar door middel van twee deuren met gekoppelde vergrendeling;
- d. De sluis wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een ML-IV ruimte gaat;
 - 2° het biorisicoteken; en
 - 3° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- e. De ramen in de werkruimte zijn afgekit, en kunnen niet geopend worden;
- f. De vloer is vloeistofdicht afgewerkt dan wel uitgevoerd;
- g. Het laboratorium is zodanig geconstrueerd dat desinfectie met behulp van gassen mogelijk is;
- h. Een ventilatiesysteem is aanwezig. Het zorgt voor een onderdruk van de werkruimte ten opzichte van de sluis en van de sluis ten opzichte van de heersende atmosferische druk. In de luchtafvoer en aanvoer is een HEPA filter aangebracht. De filters worden bij vervanging ter plekke gedesinfecteerd;
- i. Vacuümleidingen zijn voorzien van een hydrofoob absoluut-filter of van een gelijkwaardige voorziening De filters worden bij vervanging ter plekke gedesinfecteerd;
- j. Het laboratorium mag niet gelegen zijn in de nabijheid van ruimten met gevaar voor brand of explosie of op plaatsen waar kans op wateroverlast bestaat;
- k. Bij ielere deur is in de dag van het kozijn een drempel van minstens twee centimeter hoogte aangebracht. De drempels zijn naadloos en zonder scherpe overgangen uitgevoerd;
- l. Alle kranen in de werkruimte kunnen bediend worden zonder dat de handen daarbij worden gebruikt;
- m. Waterleidingen zijn ontkoppeld van de waterleidingen buiten de werkruimte of voorzien van terugslagkleppen;
- n. Er zijn voorzieningen voor desinfectie van alle afvalwater inclusief dat van wastafels en douche;
- o. De ventilatiesystemen, de koppelingssystemen van de deuren en de douche en de doorgeefautoclaaf, de veiligheidskabinetten, de noodverlichting en de

- signaleringsystemen zijn aangesloten op een noodstroomvoorziening, zodanig dat een goede werking van de systemen gewaarborgd blijft;
- p. Er is zichtcontact mogelijk met medewerkers in de werkruimte;
 - q. Het ventilatiesysteem is beveiligd tegen omkering van de richting van de luchtstroom en is voorzien van een alarmsysteem dat bij elke storing van het ventilatiesysteem waarschuwt;
 - r. De onderdruk in de werkruimte wordt gemeten; de meetapparatuur kan zowel binnen als buiten de werkruimte worden afgelezen;

uitrusting

- s. Tussen het ingeperkte en het niet-ingeperkte gebied is een doorgeefautoclaaf aanwezig, waarvan de deur aan de niet-ingeperkte zijde slechts geopend kan worden na afloop van een volledige sterilisatiecyclus;
- t. De ingeperkte werkruimte beschikt over een wastafel en een dispenser met zeep. Zowel de kraan van de wastafel als de dispenser kunnen bediend worden zonder dat de handen daarbij worden gebruikt;
- u. In de besmette zijde van de sluis is een container voor gebruikte werkkleding aanwezig;
- v. Een veiligheidskabinet van klasse-III is in de werkruimte aanwezig;
- w. Er is een telefoon en fax of gelijkwaardige voorziening aanwezig in de werkruimte voor communicatie met de buitenwereld;

overig

- x. Apparatuur is in deugdelijke staat.

4.1.1.5.2 Werkvoorschriften ML-IV

algemeen

- a. De werkruimte wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. De toegang tot de werkruimte is op slot wanneer er geen personeel in de werkruimte aanwezig is;
- f. Uitsluitend direct bij de werkzaamheden betrokken medewerkers hebben toegang tot de werkruimten; anderen mogen deze slechts betreden met afzonderlijke schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- g. Werkkleding wordt na gebruik gesteriliseerd;
- h. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris na desinfectie van de ML-IV werkruimte mag de werkruimte gedurende een periode van ten minste een maand worden gebruikt voor uitsluitend ML-III werkzaamheden volgens de onder 4.1.1.4 vermelde voorschriften. De periode waarvoor dit geldt is op de toegangsdeur aangegeven en de betrokken medewerkers zijn hierover vooraf geïnformeerd. Bij het weer in gebruik nemen als ML-IV werkruimte worden de werkruimte en het instrumentarium opnieuw gedesinfecteerd en is wederom schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris vereist. Op de toegangsdeur wordt het gebruik als ML-IV werkruimte aangegeven;
- i. Een volledige kledingwisseling bij binnenkomst en vertrek en douchen bij vertrek is voorgeschreven;
- j. De werkkleding omvat een laboratoriumjas, gown of een overall alle in combinatie met laarzen of wegwerpschoenen;
- k. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;

tijdens werkzaamheden

- l. Tijdens de werkzaamheden zijn de deuren van de werkruimte gesloten;
- m. Alle activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op ML-IV niveau, worden verricht in een klasse-III veiligheidskabinet, een onderdrukisolator dan wet, in geval van activiteiten met dieren die niet in een onderdrukisolator kunnen worden gehouden, in een voorziening met vergelijkbare fysische inperking;
- n. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;
- o. Volledig beschermende kleding en apart schoeisel wordt gedragen. Deze kleding en schoeisel worden na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten. Persoonlijke bezittingen, eigen kleding en schoeisel blijven in de niet besmette zijde van de sluis achter;
- p. Het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;

beëindigen werkzaamheden

- q. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- r. Voor het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep;

afval en besmet materiaal

- s. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- t. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd;
- u. Het afvalwater wordt volgens een gevalideerde methode gedesinfecteerd alvorens het wordt geloosd;

overig

- v. Afvoeren van materiaal uit de werkruimte, anders dan na sterilisatie via de doorgeefautoclaaf of een gevalideerd doorgeefdompelbad, is verboden.

4.1.7 Dierversblijven waarin genetisch gemodificeerde micro-organismen worden toegepast**4.1.7.1 Het DM-I verblijf****4.1.7.1.1 Inrichtingsvoorschriften DM-I****ruimte**

- a. Het dierversblijf bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. Het dierversblijf is afsluitbaar;
- c. Het dierversblijf is zo geconstrueerd dat de daarin te houden dieren niet anders dan door ingrijpen van de mens dan wel door een calamiteit buiten het verblijf kunnen geraken;
- d. Ramen kunnen niet worden geopend;
- e. Het dierversblijf wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een DM-I dierversblijf gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk

persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
3° een signalering die waarschuwt wanneer de deur niet geopend mag worden;

uitrusting

- f. Een autoclaaf is aanwezig op locatie;
- g. Een wastafel en een dispenser voorzien van zeep zijn in de werkruimte aanwezig;
- h. In de werkruimte is een aparte kapstok voor werkkleding aanwezig; •

overig

- i. Apparatuur is in deugdelijke staat.
- j. Indien gebruik wordt gemaakt van een isolator en die wordt geplaatst buiten een verblijf zoals bedoeld onder a, b, e, dan wordt de isolator beschouwd als het onder a, b, e, den e bedoelde verblijf. De isolator dient in dat geval te worden geplaatst in een afsluitbare ruimte, de inrichtingsvoorschriften onder g en h zijn niet van toepassing;

4.1.7.1.2 Werkvoorschriften DM-I

algemeen

- a. Het dierverblijf wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Het dierverblijf is afgesloten wanneer zich daarin geen medewerkers bevinden;
- c. Toegang tot de werkruimte is verboden voor onbevoegden;
- d. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- e. Pipetteren met de mond is verboden;
- f. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- g. Grote zoogdieren worden gehouden in een afsluitbare ruimte binnen het verblijf. Bij het betreden van deze ruimte is de toegang tot het verblijf gesloten;
- h. Kleine zoogdieren worden gehouden in een in het verblijf geplaatste gesloten kooi of isolator. Bij het openen van de kooi of isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan elke buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden;
- i. Andere dieren worden gehouden in een adequate huisvesting. Deze huisvesting wordt beschreven in de kennisgeving van de activiteiten;
- j. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen indien de werkruimte niet wordt gebruikt voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;
- k. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- l. Persoonlijke bezittingen waaronder kleding die niet gedragen wordt, worden buiten de werkruimte opgeborgen;
- m. Door morsen of ongevallen met genetisch gemodificeerde organismen besmette kleding wordt voor het wassen gesteriliseerd of gedesinfecteerd;
- n. Als dieren worden gehouden in kooien of bakken, dan wel in onderdrukisolatoren, wordt daaraan een specificatie bevestigd van de erin aanwezige genetisch gemodificeerde organismen;
- o. Kruiscontaminatie wordt voorkomen;
- p. Een onderdrukisolator, als bedoeld in 4.1.7.1.1.j, wordt alleen geopend in een dierverblijf als bedoeld in 4.1.7.1.1 a tot en met e; bij het openen van de isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden. tijdens werkzaamheden;
- q. Tijdens de werkzaamheden zijn de deur(en) van het dierverblijf gesloten;
- r. Bij alle werkzaamheden wordt het ontstaan en de verspreiding van aerosolen vermeden;

- s. Passende beschermende kleding wordt gedragen. De kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de werkruimte achtergelaten;
 - t. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden; beëindigen werkzaamheden;
 - u. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
 - v. Bij het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal;
 - w. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of een gelijkwaardige verpakking, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
 - x. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd; overig;
 - y. Bij gelijktijdige werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen moeten de DM-I werkvoorschriften in acht genomen worden;
 - z. Dieren die geen deel uitmaken van een experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn.
- indien genetisch gemodificeerde dieren worden toegepast in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden:
- aa. De huisvesting van genetisch gemodificeerde dieren is duidelijk gemerkt, zodat ze van niet- genetisch gemodificeerde dieren onderscheiden kunnen worden;
 - bb. Het houden van dieren in het verblijf geschiedt op zodanige wijze dat geen onbedoelde paring kan plaatsvinden.

4.1.7.2 Het DM-II verblijf

4.1.7.2.1 Inrichtingsvoorschriften DM-II

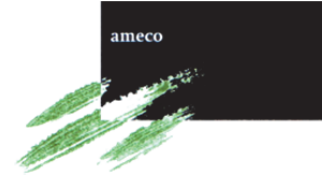
ruimte

- a. Het dierverblijf bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. Het dierverblijf is afsluitbaar;
- c. Het dierverblijf zo geconstrueerd dat de daarin te houden dieren niet anders dan door ingrijpen van de mens dan wel door een calamiteit buiten het verblijf kunnen geraken;
- d. Ramen in de werkruimten kunnen niet worden geopend;
- e. Het dierverblijf wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een DM-II dierverblijf gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris
 - 3° het biorisicoteken; en
 - 4° een signalering die waarschuwt wanneer de deur niet geopend mag worden;

uitrusting

- f. Een autoclaaf is aanwezig in het gebouw;
- g. Een wastafel met dispenser met zeep zijn dichtbij de uitgang van de werkruimte aanwezig, waarbij zowel de kraan van de wastafel als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat de handen daarbij gebruikt worden;
- h. In de werkruimte is een kapstok voor werkkleding aanwezig;
- i. Een veiligheidskabinet klasse II is in de werkruimte aanwezig;

overig



- j. Apparatuur is in deugdelijke staat;
- k. Indien gebruik wordt gemaakt van een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd, en die wordt geplaatst buiten een verblijf zoals bedoeld onder a tot en met e dan wordt de isolator beschouwd als het onder a tot en met e bedoelde verblijf. De isolator dient in dat geval te worden geplaatst in een afsluitbare ruimte, het inrichtingsvoorschrift onder g, h, en i is niet van toepassing;

4.1.7.2.2 Werkvoorschriften DM-II

algemeen

- a. Het dierverblijf wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Het dierverblijf is afgesloten wanneer zich daarin geen medewerkers bevinden;
- c. Toegang tot de werkruimte is verboden voor onbevoegden;
- d. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- e. Pipetteren met de mond is verboden;
- f. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- g. Grote zoogdieren worden gehouden in een afsluitbare ruimte binnen het verblijf. Bij het betreden van deze ruimte is de toegang tot het verblijf gesloten;
- h. Kleine zoogdieren worden gehouden in een in het verblijf geplaatste gesloten kooi of isolator. Bij het openen van de kooi of isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden;
- i. Andere dieren worden gehouden in een adequate huisvesting. Deze huisvesting wordt beschreven in de kennisgeving van de activiteiten;
- j. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- k. Persoonlijke bezittingen waaronder kleding die niet gedragen wordt, worden buiten de werkruimte opgeborgen;
- l. Na schriftelijke toestemming van de biologische veiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor uitsluitend DM-I -werkzaamheden volgens de onder 4.1.7.1 vermelde voorschriften of voor uitsluitend werkzaamheden met niet genetisch gemodificeerde organismen. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;
- m. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- n. Als dieren worden gehouden in kooien of bakken, dan wel in onderdrukisolatoren, wordt daaraan een specificatie bevestigd van de erin aanwezige genetisch gemodificeerde organismen;
- o. Kruiscontaminatie wordt voorkomen;
- p. Een onderdrukisolator, als bedoeld in 4.1.7.2.1.k, wordt alleen geopend in een dierverblijf als bedoeld in 4.1.7.2.1 a tot en met e; bij het openen van de isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden. tijdens werkzaamheden
- q. Tijdens de werkzaamheden zijn de deur(en) van het dierverblijf gesloten;
- r. Werkzaamheden waarbij aerosolen kunnen ontstaan worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van klasse II;
- s. Passende beschermende kleding wordt gedragen. De kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de werkruimte achtergelaten;
- t. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden; beëindigen werkzaamheden;
- u. De werkkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- v. Bij het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal;

- w. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of een gelijkwaardige verpakking, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- x. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval wordt afgevoerd;

overlg

- y. Dieren die geen deel uitmaken vaneen experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn;
- z. Bij werkzaamheden met dieren is het dragen van handschoenen verplicht;
- aa. Bij gelijktijdige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op DM-I niveau en werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen moeten de DM-II werkvoorschriften in acht worden genomen.
Indien genetisch gemodificeerde dieren worden toegepast in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden
- bb. De huisvesting van genetisch gemodificeerde dieren is duidelijk gemerkt, zodat ze van niet- genetisch gemodificeerde dieren onderscheiden kunnen worden;
- cc. Het houden van dieren in het verblijf geschiedt op zodanige wijze dat geen onbedoelde paring kan plaatsvinden.

4.1.7.3 Het DM-III verblijf

4.1.7.3.1 Inrichtingsvoorschriften DM-III

ruimte

- a. Het dierverblijf bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden en deuren zijn afgewerkt met niet absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken, wanden en deuren bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. Het dierverblijf is voorzien van een afsluitbare toegangsluis voorzien van twee deuren. De twee deuren mogen niet gelijktijdig geopend kunnen worden;
- c. De sluis wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een DM-III dierverblijf gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
 - 3° het biorisicoteken; en
 - 4° een signalering die waarschuwt wanneer de deur niet geopend mag worden;
- d. Het dierverblijf is afsluitbaar;
- e. Het dierverblijf zo geconstrueerd dat de daarin te houden dieren niet anders dan door ingrijpen van de mens dan wet door een calamiteit buiten het verblijf kunnen geraken;
- f. De ramen van de werkruimte kunnen niet geopend worden en zijn afgekit;
- g. De vloer is vloeistofdicht afgewerkt dan wel uitgevoerd;
- h. Het dierverblijf is zodanig geconstrueerd dat desinfectie met behulp van gassen mogelijk is;
- i. Er is een gesloten systeem voor opvang van water, urine en feces geïnstalleerd, waarin voorzieningen zijn getroffen tegen overstroming. Het opgevangen materiaal kan gedesinfecteerd of geïnactiveerd worden. De ontluchting van het systeem is voorzien van een HEPA-filter.
- j. Een ventilatiesysteem is aanwezig. Het zorgt voor een onderdruk van de werkruimte ten opzichte van de heersende atmosferische druk. De luchtafvoer is een

onafhankelijk kanaal waarin een HEPA filter is aangebracht; vacuümleidingen zijn voorzien van een hydrofoob absoluut-filter of van een gelijkwaardige voorziening;

untrusting

- k. Een autoclaaf is aanwezig en suite;
- l. In de toegangssluis zijn een wastafel en een dispenser met zeep aangebracht, waarbij zowel de kraan als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat daarbij de handen gebruikt worden;
- m. In de sluis is een kapstok voor werkkleding en een kapstok voor eigenkleding aanwezig;
- n. Er is een veiligheidskabinet: klasse II aanwezig. overig
- o. Apparatuur is in deugdelijke staat;
- p. Indien gebruik wordt gemaakt van een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd, en die wordt geplaatst buiten een verblijf zoals bedoeld onder a tot en met j, dan wordt de isolator beschouwd als het onder a tot en met j bedoelde verblijf. De isolator dient in dat geval te worden geplaatst in een afsluitbare ruimte, het inrichtingsvoorschrift onder l, m en n is niet van toepassing.

4.1.7.3.2 Werkvoorschriften DM-III

algemeen

- a. Het dierverblijf wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Uitsluitend direct bij de werkzaamheden betrokken medewerkers hebben toegang tot de werkruimten; anderen mogen deze slechts betreden met afzonderlijke schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris;
- d. Pipetteren met de mond is verboden;
- e. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- f. Het dierverblijf is afgesloten wanneer zich daarin geen medewerkers bevinden;
- g. Grote zoogdieren worden gehouden in een afsluitbare ruimte binnen het verblijf. Bij het betreden van deze ruimte is de toegang tot het verblijf gesloten;
- h. Kleine zoogdieren worden gehouden in een in het verblijf geplaatste gesloten kooi of isolator. Bij het openen van de kooi of isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden;
- i. Andere dieren worden gehouden in een adequate huisvesting. Deze huisvesting wordt beschreven in de kennisgeving van de activiteiten;
- j. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- k. Na schriftelijke toestemming van de biologischeveiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor uitsluitend DM-II-werkzaamheden volgens de onder 4.1.7.2 vermelde voorschriften. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;
- l. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- m. Als dieren worden gehouden in kooien of bakken, dan wel in onderdrukisolatoren, wordt daaraan een specificatie bevestigd van de erin aanwezige genetisch gemodificeerde organismen;
- n. Kruiscontaminatie wordt voorkomen;
- o. Een onderdrukisolator, als bedoeld in 4.1.7.3.1. p, wordt alleen geopend in een dierverblijf als bedoeld in 4.1.7.3.1 a tot en met j; bij het openen van de isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden. tijdens werkzaamheden
- p. Tijdens de werkzaamheden zijn de deur(en) van het dierverblijf gesloten;

- q. Werkzaamheden waarbij aërosolen kunnen ontstaan worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van klasse II;
- r. Passende beschermende kleding wordt gedragen. Deze kleding wordt na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten. Persoonlijke bezittingen en eigen kleding die niet onder de werkkleding wordt gedragen, blijven in de niet besmette zijde achter;
- s. Het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;
- t. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;

beëindigen werkzaamheden

- u. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- v. Voor het verlaten het ingeperkte gebied worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal
- w. Al het biologisch afval, waaronder feces en urine, wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of een gelijkwaardige verpakking, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- x. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval wordt afgevoerd;

overig

- y. Dieren die geen deel uitmaken vaneen experiment mogen niet in de werkruimte aanwezig zijn;
- z. Bij gelijktijdige werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op DM-II of DM-I niveau en werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen moeten de DM-III werkvoorschriften in acht worden genomen.

Indien genetisch gemodificeerde dieren worden toegepast in associatie niet genetisch gemodificeerde micro-organismen moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden:

- aa. De huisvesting van genetisch gemodificeerde dieren is duidelijk gemerkt, zodat ze van niet- genetisch gemodificeerde dieren onderscheiden kunnen worden;
- bb. Het houden van dieren in het verblijf geschiedt op zodanige wijze dat geen onbedoelde paring kan plaatsvinden

4.1.7.4 Het DM-IV verblijf

4.1.7.4.1 Inrichtingsvoorschriften DM-IV verblijf

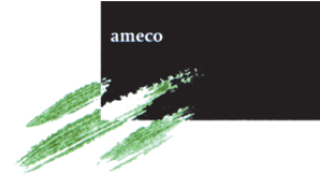
ruimte

- a. Het dierverblijf bestaat uit een permanente structuur, waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden, deuren en plafond zijn afgewerkt met niet-absorberend materiaal, en waarvan de werkoppervlakken, vloeren, wanden deuren en plafond bestand zijn tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfecteermiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. Het dierverblijf is voorzien van een afsluitbare toegangssluis;
- c. In de sluis is een douche aangebracht, die als enige doorgang is gelegen tussen een 'schone' en een ingeperkte kleedruimte. De schone en de ingeperkte ruimte staan in verbinding met elkaar door middel van twee deuren met gekoppelde vergrendeling;
- d. De sluis wordt betreden via een deur die is voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een DM-IV dierverblijf gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;

- 3° het biorisicoteken; en
4° een signalering die waarschuwt wanneer de deur niet geopend mag worden;
- e. Het dierverblijf is afsluitbaar;
 - f. Het dierverblijf zo geconstrueerd dat de daarin te houden dieren niet anders dan door ingrijpen van de mens dan wel door een calamiteit buiten het verblijf kunnen geraken;
 - g. Ramen in de werkruimten kunnen niet worden geopend en zijn afgekit;
 - h. Alle naden in de werkruimte zijn dichtgekit;
 - i. De vloer is vloeistofdicht afgewerkt dan wel uitgevoerd;
 - j. Het dierverblijf is zodanig geconstrueerd dat desinfectie met behulp van gassen mogelijk is;
 - k. Er is een gesloten systeem voor opvang van water, urine en feces geïnstalleerd, waarin voorzieningen zijn getroffen tegen overstroming. Het opgevangen materiaal kan gedesinfecteerd of geïnactiveerd worden. De ontluchting van het systeem is voorzien van een HEPA-filter;
 - l. Een ventilatiesysteem is aanwezig. Het zorgt voor een onderdruk van de werkruimte ten opzichte van de sluis en van de sluis ten opzichte van de heersende atmosferische druk. In de luchtafvoer en -aanvoer is een HEPA filter aangebracht. De luchtafvoer van het dierverblijf mag worden aangesloten op die van het gebouw als deze niet recirculeert;
 - m. Vacuümleidingen zijn voorzien van een hydrofoob absoluut-filter of van een gelijkwaardige voorziening;
 - n. De werkruimte is niet gelegen in de nabijheid van ruimten met gevaar voor brand of explosie of op plaatsen waar wateroverlast bestaat;
 - o. Bij iedere deur is in de dag van het kozijn een drempel van minstens twee centimeter hoogte aangebracht. De drempels zijn naadloos en zonder scherpe overgangen uitgevoerd;
 - p. Alle kranen in de werkruimte kunnen bediend worden zonder dat de handen daarbij worden gebruikt;
 - q. Waterleidingen zijn ontkoppeld van de waterleidingen buiten de werkruimte of voorzien van terugslagkleppen;
 - r. Er zijn voorzieningen voor de desinfectie van afvalwater inclusief dat van wastafel en douche;
 - s. De ventilatiesystemen, de koppelingssystemen van de deuren en de douche en de doorgeefautoclaaf, de veiligheidskabinetten, de noodverlichting en de signaleringssystemen zijn aangesloten op een noodstroomvoorziening, zodanig dat een goede werking van de systemen gewaarborgd blijft;
 - t. Er is zichtcontact mogelijk met medewerkers in de werkruimte;
 - u. Het ventilatiesysteem is beveiligd tegen omkering van de richting van de luchtstroom en is voorzien van een alarmsysteem dat bij elke storing van het ventilatiesysteem waarschuwt;
 - v. De onderdruk in de werkruimte wordt gemeten; de meetapparatuur kan zowel binnen als buiten de werkruimte worden afgelezen;

uitrusting

- w. Tussen het ingeperkte en het niet-ingeperkte gebied is een doorgeef autoclaaf aanwezig, waarvan de deur aan de niet-ingeperkte zijde slechts geopend kan worden na afloop van een volledige sterilisatie;
- x. In de ingeperkte werkruimte is een wastafel en een dispenser met zeep aangebracht, waarbij zowel de kraan als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat daarbij de handen gebruikt worden;
- y. In de besmette zijde van de sluis is een container voor gebruikte werkkleding aanwezig;
- z. Er is een veiligheidskabinet klasse III aanwezig;



- aa. Er is een telefoon en fax of gelijkwaardige voorziening aanwezig in de werkruimte voor communicatie met de buitenwereld; overig;
- bb. Apparatuur is in deugdelijke staat.
- cc. Indien gebruik wordt gemaakt van een onderdrukisolator die voorzien is van een HEPA-filter dat gelijktijdig met de isolator kan worden gedesinfecteerd, en die wordt geplaatst buiten een verblijf zoals bedoeld onder a tot en met v, dan wordt de isolator beschouwd als het onder a tot en met v bedoelde verblijf. De isolator dient in dat geval te worden geplaatst in een afsluitbare ruimte, het inrichtingsvoorschrift onder x, y, z, en aa is niet van toepassing;

4.1.7.4.2 Werkvoorschriften DM-IV

algemeen

- a. Het dierverblijf wordt schoon en netjes gehouden;
- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Ongedierte mag niet aanwezig zijn;
- e. Het dierverblijf is afgesloten wanneer zich daarin geen medewerkers bevinden;
- f. Grote zoogdieren worden gehouden in een afsluitbare ruimte binnen het verblijf. Bij het betreden van deze ruimte is de toegang tot het verblijf gesloten;
- g. Kleine zoogdieren worden gehouden in een in het verblijf geplaatste gesloten kooi of isolator. Bij het openen van de kooi of isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden;
- h. Andere dieren worden gehouden in een adequate huisvesting. Deze huisvesting wordt beschreven in de kennisgeving van de activiteiten;
- i. Uitsluitend direct bij de werkzaamheden betrokken medewerkers hebben toegang tot de werkruimten; anderen mogen deze slechts betreden met afzonderlijke schriftelijke toestemming van de biologische veiligheidsfunctionaris;
- j. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- k. Na schriftelijke toestemming van de biologische veiligheidsfunctionaris mag de werkruimte worden gebruikt voor uitsluitend DM-III-werkzaamheden volgens de onder 4.1.7.3 vermelde voorschriften. Dit is op de toegangsdeur aangegeven. De betrokken medewerkers worden hierover vooraf geïnformeerd;
- l. Een volledige kledingwisseling bij binnenkomst en vertrek en douchen bij vertrek is voorgeschreven;
- m. Na besmetting worden besmette oppervlakken direct gedesinfecteerd;
- n. Als dieren worden gehouden in kooien of bakken, dan wel in onderdrukisolatoren, wordt daaraan een specificatie bevestigd van de erin aanwezige genetisch gemodificeerde organismen;
- o. Kruiscontaminatie wordt voorkomen;
- p. Een onderdrukisolator, als bedoeld in 4.1.7.4.1. cc, wordt alleen geopend in een dierverblijf als bedoeld in 4.1.7.4.1 a tot en met v; bij het openen van de isolator is de toegang tot het verblijf gesloten, en wordt aan de buitenzijde aangegeven dat deze niet betreden mag worden. tijdens werkzaamheden
- q. Tijdens de werkzaamheden zijn de deur(en) van het dierverblijf gesloten;
- r. Werkzaamheden waarbij aerosolen kunnen ontstaan worden uitgevoerd in een veiligheidskabinet van klasse III;
- s. Volledig beschermende kleding en apart schoeisel wordt gedragen. Deze kleding en schoeisel worden na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten. Persoonlijke bezittingen, eigen kleding en schoeisel blijven in de niet besmette zijde van de sluis achter;
- t. Het dragen van handschoenen tijdens de werkzaamheden is verplicht;



- u. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden; beëindigen werkzaamheden
- v. De werkoppervlakken worden gedesinfecteerd aan het eind van de werkzaamheden en aan het einde van iedere werkdag;
- w. Voor het verlaten van de werkruimte worden de handen gewassen met zeep;

afval en besmet materiaal

- x. Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of een gelijkwaardige verpakking, en wordt geïnactiveerd voordat men zich ervan ontdoet;
- y. Feces en urine wordt geïnactiveerd voordat men zich er van ontdoet;
- z. Materiaal dat in aanraking is geweest met genetisch gemodificeerde organismen wordt geïnactiveerd of gedesinfecteerd voordat het wordt gewassen, hergebruikt of als afval afgevoerd;
- aa. Het afvalwater wordt volgens een gevalideerde methode gedesinfecteerd;

overig

- bb. Afvoeren van materiaal uit de werkruimte, anders dan na sterilisatie via de doorgeefautoclaaf of een gevalideerd doorgeefdompelbad, is verboden.
Indien genetisch gemodificeerde dieren worden toegepast in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen moeten de volgende aanvullende voorschriften in acht genomen worden
- cc. Huisvesting van genetisch gemodificeerde dieren is duidelijk gemerkt, zodat ze van niet-genetisch gemodificeerde dieren onderscheiden kunnen worden;
- dd. Het houden van dieren in het verblijf geschiedt op zodanige wijze dat geen onbedoelde paring kan plaatsvinden.

4.2 Fysische inperking: inrichtings- en werkvoorschriften voor activiteiten in procesinstallaties

4.2.1 Toepassing van MI-I

4.2.1.1 Inrichtingsvoorschriften MI-I

ruimte

- a. De werktafels zijn bestand tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. De werkruimte is een permanente structuur en wordt betreden via een deur die voorzien is van:
 - 1° een aanduiding dat het om een MI-I ruimte gaat; en
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris;

uitrusting

- c. Het fysisch inperkende systeem voldoet aan de eisen die gesteld worden aan het fysisch inperkende systeem die gebruikelijk zijn voor activiteiten met het ouderorganisme in procesinstallaties.

4.2.1.2 Werkvoorschriften MI-I

algemeen

- a. Bij de activiteiten worden de werkvoorschriften gevolgd die gebruikelijk zijn voor activiteiten met het ouderorganisme in procesinstallaties;

- b. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- c. Pipetteren met de mond is verboden;
- d. Werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen ingeschaald op MI-I niveau en werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen mogen gelijktijdig worden uitgevoerd in dezelfde werkruimte, indien de werkvoorschriften die gebruikelijk zijn voor activiteiten met de respectievelijke organismen onderling niet strijdig zijn;
- e. Bij activiteiten met monsters genomen uit de procesinstallatie worden de werkvoorschriften gevolgd die gebruikelijk zijn voor activiteiten met het ouderorganisme in laboratoria;

tijdens werkzaamheden

- f. Passende beschermende kleding wordt gedragen.

4.2.2 Toepassing van MI-II

4.2.2.1 Inrichtingsvoorschriften MI-II

ruimte

- a. Werktafels zijn bestand tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- b. De werkruimte is een permanente structuur en wordt betreden via een deur die afsluitbaar is en voorzien is van:
 - 1° een aanduiding dat het om een MI-II ruimte gaat; en
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste een voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologischeveiligheidsfunctionaris; en
 - 3° het biorisicoteken;

uitrusting

- c. Het fysisch inperkende systeem is zo geconstrueerd dat de verspreiding van de genetisch gemodificeerde organismen wordt beperkt;
- d. Leidingen voor de afvoer van lucht uit het fysisch inperkende systeem zijn voorzien van een inrichting of constructie die verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen via de afvoergassen beperkt;
- e. Bij het fysisch inperkende systeem is een wastafel voorzien van zeep aanwezig;
- f. Voorde werkkleding is een aparte kapstok aanwezig;

4.2.2.2 Werkvoorschriften MI-II

algemeen

- a. De werkzaamheden worden uitgevoerd in een fysisch inperkend systeem;
- b. Toegang tot de werkruimte is verboden voor onbevoegden;
- c. De ruimte waarin de fysisch inperkende systemen zich bevinden wordt in schone staat gehouden;
- d. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- e. Pipetteren met de mond is verboden;
- f. Noodprocedures voor de opvang en inactivering van de totale inhoud van het gegoten systeem zijn aanwezig tijdens werkzaamheden
- g. Het personeel draagt een laboratoriumjas of andere beschermende kleding. Het dragen van de werkkleding buiten de werkruimte is slechts daar toegestaan waar onderdelen van het betreffende proces worden uitgevoerd. Indien de werkkleding wordt besmet, wordt deze voor het wassen gesteriliseerd of gedesinfecteerd. In de werkruimte aanwezige eigen kleding wordt afzonderlijk bewaard;

- h. De bemonstering van een fysisch inperkend systeem, de toevoeging van materiaal aan dit systeem en de overdracht van materiaal naar een ander fysisch inperkend systeem geschiedt zodanig dat de vorming of verspreiding van aerosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
- i. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;
- j. Werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen die zijn ingeschaald op het MI-II, en werkzaamheden met niet-genetisch gemodificeerde organismen mogen gelijktijdig worden uitgevoerd in dezelfde werkruimte, indien voor alle werkzaamheden de werkvoorschriften MI-II in acht worden genomen;

beëindigen werkzaamheden

- k. Na beëindiging van de werkzaamheden bij het fysisch inperkende systeem worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal
- l. Lozing van de inhoud van het fysisch inperkende systeem mag pas geschieden nadat de eventueel aanwezige genetisch gemodificeerde organismen volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd;

4.2.3. Voorschriften voor het MI-III niveau

4.2.3.1 Inrichtingsvoorschriften MI-III

ruimte

- a. De werkruimte is een permanente structuur en wordt betreden via een deur die afsluitbaar is en voorzien is van:
 - 1° een aanduiding dat het om een MI-III ruimte gaat;
 - 2° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologische veiligheidsfunctionaris; en
 - 3° het biorisico teken;
- b. Werktafels en vloer zijn bestand tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken. Uitrusting;
- c. Het fysisch inperkende systeem is zo geconstrueerd dat de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen sterk wordt beperkt;
- d. Een wastafel, voorzien van een dispenser met zeep is bij het fysisch inperkende systeem aanwezig, waarbij zowel de kraan van de wastafel als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat de handen daarbij gebruikt worden;
- e. Voorde werkkleding is een kapstok aanwezig;
- f. Leidingen voor de afvoer van gassen uit of vanaf het fysisch inperkende systeem zijn voorzien van hydrofobe absoluut-filters dan wel van een gelijkwaardige voorziening, die de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen langs deze weg beperkt;
- g. Een voorziening voor de opvang en inactivering van de totale inhoud van het gesloten systeem is aanwezig.

4.2.3.2 Werkvoorschriften MI-III

algemeen

- a. De ruimte waarin het fysisch inperkende systeem zich bevindt wordt in schone staat gehouden;
- b. De werkzaamheden worden uitgevoerd in een fysisch inperkend systeem;
- c. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden.
- d. Toegang tot de werkruimte is verboden voor onbevoegden;

- e. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- f. Met uitzondering van het nemen van een monster mag geen materiaal aan het fysisch inperkend systeem worden onttrokken, tenzij de organismen verwijderd of gedood zijn door middel van een voor de gastheer gevalideerde methode;
- g. De analyse van monsters geschiedt in een ruimte die de voor het genetisch gemodificeerde organisme vereiste fysische inperking bezit;
- h. Een programma van noodmaatregelen is aanwezig. Dit bevat ook voorschriften hoe gehandeld wordt bij grote of ongebruikelijke verliezen.

tijdens werkzaamheden

- i. Het personeel draagt werkkleding. Deze kleding mag niet buiten de werkruimten worden gedragen. Eigen kleding die niet onder de werkkleding wordt gedragen, wordt buiten de werkruimte opgeborgen;
- j. De bemonstering van een fysisch inperkend systeem, de toevoeging van materiaal aan dit systeem en de overdracht van materiaal naar een ander systeem geschieden zodanig dat de vorming en/of verspreiding van aerosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
- k. Het fysisch inperkende systeem mag pas worden geopend nadat het is gedesinfecteerd door middel van een voor de gastheer gevalideerde methode;
- l. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;

beëindiging werkzaamheden

- m. Na beëindiging van de werkzaamheden bij het fysisch inperkende systeem worden de handen gewassen met zeep; afval en besmet materiaal
- n. Lozing van de inhoud van het fysisch inperkende systeem mag pas geschieden nadat de eventueel aanwezige genetisch gemodificeerde organismen volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd;

4.2.4 Voorschriften voor het MI-IV niveau

4.2.4.1 Inrichtingsvoorschriften MI-IV

ruimte

- a. De werkruimte is een fysisch ingeperkte ruimte met een permanente structuur en wordt betreden via een sluis, bestaande uit een douchecel gelegen als enige doorgang tussen een 'schone' en een ingeperkte kleedruimte. De buitendeur van de schone kleedruimte is afsluitbaar en voorzien van:
 - 1° een aanduiding dat het om een MI-IV ruimte gaat;
 - 2° het biorisico-teken; en
 - 3° namen en telefoonnummers van ten minste één voor de ruimte verantwoordelijk persoon en van de biologische veiligheidsfunctionaris;
- b. Uitsluitend direct bij de werkzaamheden betrokken medewerkers hebben toegang tot de werkruimten; anderen mogen deze slechts betreden met afzonderlijke schriftelijke toestemming van de biologische veiligheidsfunctionaris;
- c. De oppervlakken van wanden en vloeren zijn bestand tegen water, zuren, basen, oplosmiddelen, desinfectiemiddelen en ontsmettingsreagentia en gemakkelijk schoon te maken;
- d. Een ventilatiesysteem is aanwezig. In de luchtaanvoer en luchtafvoer is een HEPA-filter aanwezig. In de werkruimte heerst onderdruk ten opzichte van de ingeperkte kleedruimte en douche; deze hebben een onderdruk ten opzichte van de schone kleedruimte en de buitenwereld. Deze onderdruk wordt gecontroleerd
- e. Er zijn voorzieningen getroffen voor de desinfectie van alle afvalwater, inclusief dat van de wastafel in de ingeperkte werkruimte, en de douche;
- f. De werkruimte is zo geconstrueerd dat desinfectie met behulp van gassen mogelijk is;

uitrusting

- g. Het fysisch inperkende systeem is zo geconstrueerd dat de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen wordt voorkomen;
- h. Een wastafel voorzien van een dispenser met zeep is bij het fysisch inperkende systeem aanwezig, waarbij zowel de kraan van de wastafel als de dispenser bediend kunnen worden zonder dat de handen daarbij gebruikt worden;
- i. Voor de werkkleding is een container aanwezig;
- j. Leidingen voor de afvoer van gassen uit het fysisch inperkende systeem zijn voorzien van hydrofobe absoluut-filters dan wel van een gelijkwaardige voorziening, die de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen langs deze weg voorkomt;
- k. Afdichtingen zijn lek-vrij of geheel omsloten door een geventileerd huis waarvan de afgezogen lucht wordt afgevoerd via een hydrofoob absoluut-filter, dan wel een gelijkwaardige voorziening, die de verspreiding van genetisch gemodificeerde organismen langs deze weg voorkomt;
- l. Vacuümleidingen zijn voorzien van een hydrofoob absoluut-filter;
- m. Een voorziening voor de opvang en inactivering van de totale inhoud van het gesloten systeem is aanwezig.

4.2.4.2 Werkvoorschriften MI-IV**algemeen**

- a. De ruimte waarin het fysisch inperkende systeem zich bevindt wordt in schone staat gehouden;
- b. De werkzaamheden worden uitgevoerd in een fysisch inperkend systeem;
- c. Eten, drinken, roken, het aanwezig hebben van eet- of drinkgerei, het aanbrengen van cosmetica en het opslaan van voedsel en dranken in de werkruimte zijn verboden;
- d. De werkkleding wordt gedesinfecteerd of gesteriliseerd voordat ze wordt gewassen;
- e. Het fysisch inperkende systeem mag pas worden geopend nadat het is gedesinfecteerd door middel van een voor de gastheer gevalideerde methode;
- f. Voor het betreden van de werkruimte vindt een volledige kledingwisseling plaats. De werkkleding bestaat uit laboratoriumkleding of een overall, alle in combinatie met laarzen of wegwerpschoenen. Na het verlaten van de werkruimte wordt deze kleding bewaard in een gesloten kast, die niet gebruikt mag worden voor het bewaren van eigen kleding, of wordt gedeponneerd in een container;
- g. Een programma van noodmaatregelen is aanwezig. Dit bevat ook voorschriften hoe gehandeld wordt bij grote of ongebruikelijke verliezen;

tijdens werkzaamheden

- h. De bemonstering van een fysisch inperkend systeem, de toevoeging van materiaal aan dit systeem en de overdracht van materiaal naar een ander systeem geschieden zodanig dat de vorming en/of verspreiding van aerosolen en de besmetting van externe oppervlakken worden vermeden;
- i. Met uitzondering van het nemen van een monster mag geen vloeistof aan een fysisch inperkend systeem worden onttrokken, tenzij de organismen verwijderd of gedood zijn door middel van een voor de gastheer gevalideerde methode;
- j. De analyse van monsters geschiedt in een ruimte die de voor het genetisch gemodificeerde organisme vereiste fysieke inperking bezit;
- k. Het dragen van polshorloges en sieraden aan armen en handen is verboden;

beëindigen werkzaamheden

- l. Bij het verlaten van de werkruimte is douchen verplicht;
- m. Na beëindiging van de werkzaamheden bij het fysisch inperkende systeem worden de handen direct gewassen met zeep; afval en besmet materiaal



-
- n. Lozing van de inhoud van het fysisch inperkende systeem mag pas geschieden nadat de eventueel aanwezige genetisch gemodificeerde organismen volgens een gevalideerde methode zijn geïnactiveerd;
 - o. Het afvalwater wordt volgens een gevalideerde methode gedesinfecteerd alvorens het wordt geloosd.

Appendix B

Bijlage 5 bij de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (28 mei 1998)

Inschaling van activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen

- 5.1** Activiteiten met een genetisch gemodificeerd micro-organisme waarvan de gastheer staat vermeld in bijlage 1 en de vector staat vermeld in bijlage 2, onder 2.1.1, en waarin zich geen insertie bevindt die vermeld staat in bijlage 2, onder 2.2

Inschaling: ML-I.

- 5.2** Activiteiten met een genetisch gemodificeerd micro-organisme waarvan de gastheer staat vermeld in bijlage 1 en de vector staat vermeld in bijlage 2, onder 2.1.1 of een vector die voldoet aan de criteria vermeld in bijlage 2, onder 2.1

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. De donor bevat een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: ML-II.
- b. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2. **Inschaling:** respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- c. De donor is een defect, voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: respectievelijk ML-II, ML-I, ML-I.
- d. De donor is een niet-viraal pathogeen van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- e. De donor is een organisme dat geen schadelijk genproduct bevat.
Inschaling: ML-I.

Activiteiten waarbij gekarakteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- f. De sequentie bevat genetische informatie voor een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer. **Inschaling:** ML-II.
- g. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- h. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een defect, voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: respectievelijk ML-II, ML-I, ML-I.
- i. De sequentie bevat geen genetische informatie die codeert voor een schadelijk genproduct.
Inschaling: ML-I.

- 5.3** Activiteiten met een genetisch gemodificeerd micro-organisme van klasse 4, 3, 2 of 1 (uitgezonderd virussen infectieus voor hogere eukaryoten)

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. De donor bevat een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-III
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: ML-II.
- b. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2. **Inschaling:** de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- c. De donor is een defect, voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: respectievelijk ML-II, ML-II, ML-II.
- d. De donor is een niet-viraal pathogeen van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II.
- e. De donor is een organisme dat geen schadelijk genproduct bevat.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: ML-II.

Activiteiten waarbij gekarakteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- f. De sequentie bevat genetische informatie voor een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-III
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: ML-II.
- g. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.

- h. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een defect, voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: respectievelijk ML-II, ML-II, ML-II.
- i. De sequentie bevat geen genetische informatie die codeert voor een schadelijk genproduct. **Inschaling:** de gastheer is een micro-organisme van
klasse 4: ML-IV 1.
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-II
klasse 1, nog niet erkend als geschikt voor bijlage 1: ML-II.

5.4 Activiteiten met genetisch gemodificeerde animale cellen dan wel plantencellen

5.4.1 De vector is een plasmide

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. De donor bevat een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: ML-II.
- b. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en aanwezigheid van het genetisch materiaal van de donor in de gastheer kan leiden tot de vorming van autonoom replicerende virusdeeltjes.
Inschaling: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- c. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en aanwezigheid van het genetisch materiaal van de donor in de gastheer kan niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende virusdeeltjes.
Inschaling: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- d. De donor is een niet-viraal pathogeen van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- e. De donor is een organisme dat geen schadelijk genproduct bevat.
Inschaling: ML-I.

Activiteiten waarbij gekarakteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- f. De sequentie bevat genetische informatie voor een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: ML-II.
- g. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- h. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I.
- i. De sequentie bevat geen genetische informatie die codeert voor een schadelijk genproduct.
Inschaling: ML-I.

5.4.2 De combinatie van gastheercel en virale vector is biologisch ingeperkt:

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. De donor bevat een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: ML-III
klasse 3: ML-II
klasse 2: ML-II
klasse 1: ML-II.
- b. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 1: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- c. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I
klasse 1: respectievelijk ML-11, ML-II, ML-I .
- d. De donor is een niet-viraal pathogeen van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II
klasse 2: respectteveujk ML-III, ML-II, ML-I
klasse 1: respectievelijk ML-II, ML-II, ML-I.
- e. De donor is een organisme dat geen schadelijk genproduct bevat.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: ML-III
klasse 3: ML-II
klasse 2: ML-I
klasse 1: ML-I.

Activiteiten waarbij gekarakteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- f. De sequentie bevat genetische informatie voor een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: ML-III
klasse 3: ML-II
klasse 2: ML-II
klasse 1: ML-II.
- g. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen leiden tot de vorming van autonoom replicerende virusdeeltjes.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II

- klasse 2:** respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II
klasse 1: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- h. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende virusdeeltjes.
Inschaling: de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-I
klasse 1: respectievelijk ML-II, ML-II, ML-I.
- i. De sequentie bevat geen genetische informatie die codeert voor een schadelijk genproduct. **Inschaling:** de virale vector is afgeleid van een virus van
klasse 4: ML-III
klasse 3: ML-II
klasse 2: ML-I
klasse 1: ML-I.

5.4.3 De combinatie van gastheercel en virale vector is biologisch niet ingeperkt

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. De donor bevat een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-III.
- b. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- c. De donor is een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II.
- d. De donor is een niet-viraal pathogeen van respectievelijk klasse 4, 3 of 2.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II.
- e. De donor is een organisme dat geen schadelijk genproduct bevat
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-II.

Activiteiten waarbij gekarakteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- f. De sequentie bevat genetische informatie voor een schadelijk genproduct dat werkzaam kan zijn in deze gastheer.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-III.
- g. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-IV, ML-III, ML-II.
- h. De sequentie bevat, in combinatie met sequenties van de gastheer of de vector, genetische informatie voor de vorming van een voor eukaryote cellen infectieus virus van respectievelijk klasse 4, 3 of 2, en de in de gastheer gebrachte virale sequenties kunnen niet leiden tot de vorming van autonoom replicerende deeltjes.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: respectievelijk ML-IV, ML-IV, ML-IV
klasse 3: respectievelijk ML-III, ML-III, ML-III
klasse 2: respectievelijk ML-III, ML-II, ML-II.
- i. De sequentie bevat geen genetische informatie die codeert voor een schadelijk genproduct.
Inschaling: de virale vector is een virus van
klasse 4: ML-IV
klasse 3: ML-III
klasse 2: ML-II.

5.4.4 Activiteiten met al dan niet genetisch gemodificeerde animale cellen dan wel plantencellen al dan niet in associatie met een genetisch gemodificeerd micro-organisme

Activiteiten waarbij ongekaracteriseerde donorsequenties worden gebruikt:

- a. Celkweek van cellen afkomstig van genetisch gemodificeerde dieren die gehouden worden in een D-1 inrichting.
Inschaling: ML-I indien gebracht onder omstandigheden dat replicatie dan wel overdracht van genetisch materiaal mogelijk is.
- b. Cellen afkomstig van al dan niet genetisch gemodificeerde dieren in associatie met een genetisch gemodificeerd micro-organisme die gehouden worden in een DM-IV, DM-III, DM-II, DM-I inrichting.
Inschaling: ML niveau waarop het genetisch gemodificeerde micro-organisme gehanteerd moet worden.
- c. [Celkweek van cellen afkomstig van genetisch gemodificeerde planten: niet van toepassing voor dit rapport; ook paragraaf 5.5: Handelingen met genetisch gemodificeerde planten is niet van toepassing.]

5.6 Handelingen met dieren

5.6.1 Handelingen met genetisch gemodificeerde dieren [niet van toepassing voor dit rapport]

5.6.2 Handelingen met al dan niet genetisch gemodificeerde dieren in associatie met genetisch gemodificeerde organismen

- a. Dieren in associatie met plasmide of getransfecteerde cellen afkomstig van hogere eukaryoten, waarbij door de combinatie van het dier en de genetisch gemodificeerde vector of cel biologische inperking is verkregen.

Inschaling: D-1.

Als aan a. niet voldaan wordt:

- b. Dieren in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen die onder laboratorium omstandigheden op ML-I niveau moeten worden gehanteerd.

Inschaling: DM-I.

- c. Dieren in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen die onder laboratorium omstandigheden op ML-II niveau moeten worden gehanteerd.

Inschaling: DM-II; DM-III in geval van aërogene verspreiding van het micro-organisme.

- d. Dieren in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen die onder laboratorium omstandigheden op ML-III niveau moeten worden gehanteerd;

Inschaling: DM-iii.

- e. Dieren in associatie met genetisch gemodificeerde micro-organismen die onder laboratorium omstandigheden op ML-IV niveau moeten worden gehanteerd;

Inschaling: DM-IV.

5.7 Handelingen in procesinstallaties

5.7.1 Het genetisch gemodificeerde organisme voldoet aan elk van de volgende voorwaarden:

- a. het genetisch gemodificeerde organisme behoort tot groep I;
- b. de gebruikte gastheer en vector(en) zijn alle overeenkomstig bijlage 1 respectievelijk 2, dan wel overeenkomstig een beschikking krachtens artikel 2, vierde lid, van het Besluit aangeduid als geschikt voor de vervaardiging van een genetisch gemodificeerd organisme waarmee onder voorwaarden handelingen op MI-I niveau of hoger mogen worden verricht;
- c. het genetisch gemodificeerde organisme is niet pathogeen;
- d. het genetisch gemodificeerde organisme is in de installatie en het productieproces ten minste even veilig voor de gezondheid van de mens en het milieu als de gastheer of ouderstammen;
- e. het genetisch gemodificeerde organisme heeft ten opzichte van het wildtype organisme waarvan het is afgeleid, een beperkte overlevingskans buiten het fysisch inperkend systeem.

Inschaling: MI-I.

5.7.2 Het genetisch gemodificeerde organisme voldoet aan elk van de volgende voorwaarden:

- a. het genetisch gemodificeerde organisme behoort tot groep I;
- b. de gebruikte gastheer en vector(en) zijn overeenkomstig bijlage 1 respectievelijk bijlage a. 2, dan wel overeenkomstig een beschikking krachtens artikel 2, vierde lid, van het Besluit aangeduid als geschikt voor de vervaardiging van een genetisch gemodificeerd organisme waarmee onder voorwaarden handelingen op MI-II niveau of hoger mogen worden verricht;
- c. het genetisch gemodificeerde organisme is niet pathogeen;
- d. het genetisch gemodificeerde organisme is ten minste even veilig voor de gezondheid van de mens en het milieu als de gastheer of de ouderstammen.

Inschaling: MI-II

5.7.3 Het genetisch gemodificeerde organisme voldoet niet aan de voorwaarden vermeld onder 5.7.1 of 5.7.2



-
- a. Handelingen met het genetisch gemodificeerd organisme in laboratoria kunnen worden verricht in een ML-I of ML-II werkruimte.
Inschaling: MI-III.
 - b. Handelingen met het genetisch gemodificeerd organisme in laboratoria moeten worden verricht in een ML-III werkruimte.
Inschaling: MI-IV.