

Voorzitter: prof.dr.ir. B.C.J. Zoeteman

Cogem
postbus 578
3720 AN Bilthoven

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

Uw kenmerk	Uw brief van	Kenmerk	Datum
GGO 05-091/01.co1	16 maart 2006	CGM/060329-02	29 maart 2006
Onderwerp			
Advies IG 05-091/01			

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van de adviesvraag over kennisgeving IG 05-091/01 betreffende de productie van influenza vaccin H5N3 door AHP Manufacturing B.V., en het voorstel tot inschaling dat is opgesteld door Bureau GGO, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over een omlaagschaling voor de commerciële productie van een genetisch gemodificeerde influenza A vaccin op MI-II inperkingsniveau. Het doel is om een vaccin voor kippen te produceren tegen het H5N1 influenzavirus. Het virusvaccin is gebaseerd op de niet-pathogene influenza A stam A/PuertoRico/8/34 en enkele delen van hoogpathogene influenza A virussen. Normaliter dienen de beoogde handelingen onder MI-III condities uitgevoerd te worden.

Tijdens productie van het vaccin zouden risico's kunnen ontstaan in geval van een incident waarbij geïnfecteerde eieren breken. Dit zou ertoe kunnen leiden dat virussen in de productieruimte terechtkomen waarna eventueel verspreiding in het milieu kan plaatsvinden. Daarnaast zouden productiemedewerkers geïnfecteerd kunnen raken.

De te gebruiken productieruimte is aangemerkt als een MI-II ruimte, maar biedt een hogere fysieke inperking dan een standaard MI-II ruimte. De productieruimte is inclusief de toegangssluis van de omgeving gescheiden door een drukregime. Daarnaast wordt alle in- en uitgaande lucht HEPA gefilterd. De COGEM acht deze fysieke inperkingsmaatregelen afdoende om te voorkomen dat de vaccinvirussen vanuit de productieruimte in het milieu terechtkomen. De voorgestelde aanvullende werkvoorschriften, zoals het dragen van beschermende middelen, bieden volgens de COGEM voldoende bescherming om besmetting van productiemedewerkers te voorkomen.

De COGEM is van mening dat de risico's voor mens en milieu bij omlaagschaling van de beoogde werkzaamheden, met inachtneming van de aanvullende maatregelen, verwaarloosbaar klein zijn.

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a large loop on the left and a long horizontal stroke extending to the right.

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

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. R.C. Zwart

Omlaagschaling van de commerciële productie van influenza vaccin

COGEM advies CGM/060329-02

Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een inschalingsvoorstel van Bureau GGO voor de kleinschalige commerciële productie van genetisch gemodificeerde influenza A vaccins. De aanvrager is voornemens om influenza vaccins te produceren om kippen te vaccineren tegen influenzavirustype H5N1. De vaccinstam is gebaseerd op de niet-pathogene influenza A virusstam A/PuertoRico/8/34. Het vaccin zal worden geproduceerd in geëmbryoneerde kippeneieren. Om te voorkomen dat het uiteindelijke vaccin infectieus virus bevat, wordt het behandeld met formaldehyde waardoor het virus geïnactiveerd wordt.

Het COGEM advies CGM/050201-01 stelt dat kleinschalige handelingen met de genoemde virusstammen plaats kunnen vinden op ML-II inperkingsniveau (handelingen in laboratoria) met inachtneming van aanvullende voorschriften (10). De onderhavige vergunningaanvraag heeft betrekking op commerciële productie. Volgens de Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen (Regeling GGO) moeten handelingen in procesinstallaties met genetisch gemodificeerde influenzavirussen uitgevoerd worden onder MI-III condities (1). De aanvrager verzoekt om de vaccinproductie in een zogenaamde 'cleanroom' uit te voeren, die aangemerkt is als MI-II ruimte.

Influenza A virussen

Het influenzavirus staat ook bekend als het griepvirus. Dit RNA virus behoort tot de familie *Orthomyxoviridae* en is onderverdeeld in drie typen, Influenza A, B en C (2;3). Alleen het *Influenza A virus* kan zowel mensen, vogels als zoogdieren infecteren. Het genoom van het *Influenza A virus* bestaat uit acht unieke gensegmenten die coderen voor tien eiwitten, waaronder haemagglutinine (HA), neuraminidase (NA). De HA en NA eiwitten spelen een belangrijke rol bij de gastheerspecificiteit en de aanmaak van antistoffen tegen het virus (4).

Classificatie van influenzavirussen vindt plaats op basis van de aanwezige HA en NA subtypen. In totaal zijn er voor het *Influenza A virus*, 16 verschillende haemagglutinine subtypen (H1 t/m H16) en 9 verschillende neuraminidase subtypen (N1 t/m N9) bekend. Bij vogels komen alle subtypen voor, terwijl bij de mens voor zover bekend alleen H1, H2, H3, N1, N2 voorkomen. Recentelijk blijkt dat ook H5, H7 en H9 bij de mens tot infecties kunnen leiden (5;6).

De pathogeniteit van influenza A virussen wordt bepaald door een aantal factoren, waaronder het HA eiwit. Het HA eiwit wordt door een cellulair protease (trypsin-like serine endoprotease) gesplitst op een specifieke klievingsplaats. Klieving van het eiwit in HA1 en HA2 vormt een belangrijke stap voor de pathogeniteit van het virus. Aangezien het betreffende protease voornamelijk actief is in epitheelcellen van de luchtwegen, zijn deze cellen vatbaar voor het virus.

Als gevolg van een insertiemutatie van enkele aminozuren in de klievingplaats, ontstaat een polybasische klievingsplaats. Hierdoor kunnen ook andere proteasen (PC1 en furine), die actief zijn in cellen in het hele lichaam, het HA eiwit klieven. Dit heeft tot gevolg dat weefsels in het gehele lichaam geïnfecteerd kunnen raken. Dit kan leiden tot een verandering van specificiteit, pathogeniteit en gastheerbereik van het virus (6;7). Uit influenzavirusuitbraken in het verleden blijkt de aanwezigheid van een dergelijke polybasische klievingsplaats in het HA eiwit een belangrijke aanwijzing te zijn voor de pathogeniteit van het virus.

Vogels die geïnfecteerd raken met influenza A virussen (aviaire influenza A) maken doorgaans asymptomatische of milde infecties door. Wanneer overdracht plaatsvindt van wilde watervogels naar pluimvee, kunnen sommige virusstammen evolueren tot hoogpathogene influenzavirussen door mutaties en uitwisseling van genoomsegmenten tussen influenzavirussen. Aangezien een influenzavirus bestaat uit acht verschillende genoomsegmenten, kunnen er uit twee typen influenzavirussen theoretisch $256 (2^8)$ unieke combinaties gevormd worden. Dit kan tot gevolg hebben dat een pathogeen influenzavirus ontstaat met geheel nieuwe eigenschappen en oppervlakte eiwitten, waartegen in de populatie geen antistoffen aanwezig zijn. Vermenging van een niet-virulent humaan influenzavirus met een pathogeen aviair influenzavirus kan leiden tot het ontstaan van een pathogeen humaan influenzavirus (6).

In het verleden zijn diverse hoogpathogene influenza virussen ontstaan. Recentelijk is het hoogpathogene subtype H5N1 waargenomen in Zuid-Oost Azië, Rusland, Turkije, Roemenië, Kroatië, Iran en Nigeria. Sinds februari van dit jaar is het betreffende virus geconstateerd in Europa, waaronder Italië, Duitsland, Frankrijk, Zwitserland, Zweden en Polen. In Duitsland zijn enkele met H5N1 besmette katten overleden. In Turkije zijn mensen besmet geraakt waarvan een aantal is overleden (8).

Het aviaire influenzavirus wordt verspreid door intensief contact met besmet pluimvee, via besmette ontlasting van pluimvee en (trek)vogels en via kleine stofdeeltjes door de lucht (5;6;9). Mensen kunnen besmet raken met het H5N1 influenzavirus, maar tot op heden zijn er geen aanwijzingen dat het virus zich efficiënt kan verspreiden van mens op mens. Indien het virus door mutatie van mens op mens kan verspreiden zou een wereldwijde pandemie kunnen ontstaan. Het is de verwachting dat niet alleen jonge kinderen, ouderen en mensen met een verzwakt immuunsysteem ziek worden, maar ook gezonde volwassenen aangezien er weinig

immuniteit onder het grootste deel van de wereldbevolking heerst tegen het H5 eiwit. (6;9).

Eerder COGEM advies

De COGEM heeft eerder geadviseerd (CGM/050201-01 en CGM/060224-01) over de inschaling van kleinschalige experimenten met influenzavirussen ten behoeve van vaccinontwikkeling (10;11). De werkzaamheden betroffen de vervaardiging van recombinante virussen bestaande uit minimaal zes gensegmenten afkomstig van een niet-virulente verzwakte laboratoriumstam, zoals A/PuertoRico/8/34 (H1N1), in combinatie met één of twee gensegmenten van andere influenzavirussen. De aanvrager heeft destijds aangegeven dat het HA gen geen basische klievingplaats bevat en dat in de heterologe gensegmenten geen ongedefinieerde mutaties met behulp van recombinante DNA technieken aangebracht zijn.

De COGEM heeft geadviseerd dat de productie van de recombinante influenza A virussen, de infectie van geëmbryoneerde kippeneieren en de handelingen met cellen en weefsels van geïnfecteerde dieren, op ML-II inperkingsniveau uitgevoerd kunnen worden met inachtneming van de volgende aanvullende voorschriften:

- medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan *Influenza A virus*;
- medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van werkzaamheden;
- handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden;
- het dragen van handschoenen is verplicht;
- het dragen van een mondkapje (model N95 of hogere specificatie) en een beschermende bril is verplicht.

Voor infectie van geëmbryoneerde kippeneieren met genetisch gemodificeerde influenza A virussen heeft de COGEM als additionele aanvullende voorschriften voorgesteld dat de geïnfecteerde eieren in een gesloten vloeistofdichte doos in een stoof gebroed worden en dat de dozen uitsluitend in een veiligheidskabinet klasse-II geopend worden. Bij eventuele breuk van een ei dient de gesloten doos in zijn geheel geautoclaveerd te worden.

Onlangs heeft de COGEM geadviseerd (CGM/060228-01) over de grootschalige commerciële productie van influenzavirusvaccins tegen type H5N1 met behulp van animale cellen in fermentoren (12). De vaccinproductie vond plaats in een volledig gesloten systeem. De COGEM heeft destijds geadviseerd dat de inrichtingsvoorschriften van een MI-III ruimte, alsmede de aanvullende voorschriften, voldoende fysieke inperking geven om de veiligheid voor mens en milieu te waarborgen.

Adviesvraag

De aanvraag heeft betrekking op de commerciële productie van een genetisch gemodificeerde influenza A stam (H5N3) ten behoeve van vaccinproductie in geëmbryoneerde kippeneieren. De vaccinstam is vervaardigd in de Verenigde Staten

met behulp van de techniek 'reverse genetics'. Het influenzavirusvaccin is samengesteld uit 6 gensegmenten afkomstig van de niet-pathogene influenza A virusstam A/PuertoRico/8/34 (H1N1). De overige twee gensegmenten coderen voor het hemagglutinine en het neuraminidase eiwit. Het HA gensegment is afkomstig uit het H5N1 influenza A virus A/chicken/Vietnam/c58/04, terwijl het NA gensegment afkomstig is van het H2N3 influenza A virus A/duck/Germany/1215/73 (13). Daarbij is de basische klievingplaats in het HA eiwit verwijderd waardoor de pathogeniteit van het influenzavirus voor mensen drastisch verminderd (17). Opname van het NA gensegment van influenzavirustype H2N3 in het vaccin heeft tot doel om gevaccineerde kippen te kunnen onderscheiden van met H5N1 geïnfecteerde kippen.

Vaccinproductie

De vaccinproductie zal worden uitgevoerd in een 'cleanroom'. In deze productieruimte worden per productiebatch maximaal 14000 eieren geïnoculeerd met genetisch gemodificeerd influenza A virus. Na inoculatie worden de eieren in een rooster geplaatst. De roosters met elk 50 eieren worden vervolgens in een incubator in stalen stellingen met lekdichte bodemplaten geplaatst. De geïnoculeerde eieren worden gedurende 72 uur bij 37°C geïncubeerd. Na incubatie wordt de vloeistof in de dooierzaksteel (allantoïsvloeistof) uit de eieren geoogst. Zowel het inoculeren als het oogsten van de eieren wordt uitgevoerd in een veiligheidskabinet klasse II in de 'cleanroom'.

De allantoïsvloeistof wordt verzameld in tien liter flessen met maximaal acht liter product. Gezien het feit dat het volume van het product niet meer is dan acht liter per eenheid kunnen de werkzaamheden als kleinschalig aangeduid worden. Per productiebatch worden maximaal 20 flessen gevuld met product. Direct na de oogst wordt het vaccin geïncubeerd met 0,2% formaldehyde gedurende 24 uur bij 37°C. Dit om te voorkomen dat het uiteindelijke vaccin infectieus virus bevat.

Productieruimte

De 'cleanroom' waar de vaccinproductie plaatsvindt heeft de status van een MI-II ruimte. De inrichtings- en werkvoorschriften van het MI-II inperkingsniveau zijn toegespitst op het gebruik van een bioreactor. Dit houdt in dat de productie plaatsvindt in een volledig gesloten systeem. In de onderhavige aanvraag is er echter sprake van open handelingen. Omdat de werkzaamheden niet uitgevoerd worden in een gesloten systeem zijn de inrichtingsmaatregelen voor de MI-II ruimte aangepast. In de 'cleanroom' en toegangssluis heerst een overdruk. Rondom de productieruimte is een schil met onderdruk aangebracht. Hierdoor wordt de 'cleanroom' inclusief toegangssluis van de omgeving gescheiden door een drukregime. Daarnaast wordt alle ingaande en uitgaande lucht HEPA gefilterd.

De medewerkers in de 'cleanroom' worden beschermd door het dragen van wegwerp 'cleanroompakken' die het gehele lichaam bedekken, een haarkapje, een

spatbeschermende veiligheidsbril, wegwerp latex handschoenen en wegwerp mond- en neusmaskers die voldoen aan de beschermingsfactor EN149:2001 klasse FFP2 of FFP3 (N95). Om eventuele verspreiding van het vaccinvirus via kleding te voorkomen worden alle beschermende middelen verzameld in gesloten ziekenhuisvaten die aan de buitenkant met 70% ethanol gedesinfecteerd worden voordat zij de ruimte verlaten. Ook eierafval wordt onder lokale afzuiging in deze ziekenhuisvaten verzameld en afgevoerd. Bij morsincidenten zoals het breken van eieren, wordt een detergent (Sekusept) gebruikt voor het schoonmaken alvorens over te gaan op desinfectie met 70% ethanol of 70% isopropanol. Alle materialen die zijn gebruikt bij het schoonmaken worden in ziekenhuisvaten verzameld en afgevoerd. Na elke productiebatch wordt de 'cleanroom' gefumigeerd met formaldehyde.

Handelingen in procesinstallaties met genetisch gemodificeerde influenzavirussen dienen volgens de Regeling GGO uitgevoerd te worden onder MI-III condities (1). Aangezien de aanvrager verzoekt om omlaagschaling, heeft Bureau GGO aanvullende maatregelen opgesteld om de kans op eventuele risico's te verkleinen. Samenvattend betreft het de volgende voorschriften:

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:

- medewerkers die symptomen van griep vertonen worden uitgesloten van de werkzaamheden;
- medewerkers zijn gevaccineerd tegen humaan influenza A virus;
- het dragen van handschoenen is verplicht;
- het dragen van volledig beschermende kleding, een haarkapje, een mond- en neuskapje (N-95 of hogere specificatie) en een beschermende bril is verplicht;
- handelingen dienen in een veiligheidskabinet klasse-II uitgevoerd te worden;
- 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 genetisch gemodificeerde influenza A virussen bestaat uit minimaal 6 gensegmenten die afkomstig zijn van A/PR/8/34;
- heterologe gensegmenten zijn volledig gekarakteriseerd;
- voor heterologe HA-coderende gensegmenten geldt dat de aanwezigheid van een basische klievingsplaats is uitgesloten.

Overweging en advies

Het recombinante vaccinvirus is gebaseerd op de virusstam A/PR/8/34. Van deze vaccinstam is mede op grond van literatuurgegevens bekend dat deze avirulent en sterk geattenuëerd is voor mensen (7; 14; 16).

In de recombinante virussen worden de HA en NA genoomsegmenten van H5N1 virusstammen gebruikt. Verwijdering van de basische klievingplaats in het HA eiwit van het H5N1 influenzavirus zal de pathogeniteit drastisch verminderen (17). De Wereld Gezondheidsorganisatie (WHO) is van mening dat recombinante virussen, bestaande uit zes genoomsegmenten van A/PR/8/34, het NA gen van het H5N1 virus en het HA gen zonder de basische aminozuren van het H5N1 virus, niet pathogeen zijn.

Gezien de genetische plasticiteit van het vaccinvirus en het daarmee gepaard gaande aanpassingsvermogen, is de COGEM van mening dat, ondanks het verzwakte karakter van de vaccinstammen, niet geheel uit te sluiten is dat het virus een (gelimiteerde) infectie, bijvoorbeeld aan de ogen, kan veroorzaken.

Tijdens productie van het virusvaccin zouden risico's kunnen ontstaan in geval van een incident waarbij geïnfecteerde eieren breken. Dit zou ertoe kunnen leiden dat virussen in de productieruimte terechtkomen waarna eventueel verspreiding in het milieu plaatsvindt. Daarnaast zouden productiemedewerkers geïnfecteerd kunnen raken. Hieronder wordt ingegaan op beide situaties.

Productieruimte

Handelingen in procesinstallaties met genetisch gemodificeerde influenzavirussen dienen volgens de Regeling GGO uitgevoerd te worden onder MI-III condities (1). De aanvrager verzoekt om de vaccinproductie in de MI-II ruimte met aanvullende inrichtingsvoorschriften uit te voeren. Het betreft handelingen waarbij geen gebruik gemaakt wordt van een volledig gesloten productiesysteem. Terwijl de inrichtings- en werkvoorschriften van een MI-II inperkingsniveau, zoals die omschreven zijn in de Regeling GGO, zijn toegespitst op het gebruik van een gesloten procesinstallatie.

Om te bepalen of de productieruimte voldoende fysieke inperking biedt, is beoordeeld welke maatregelen getroffen zijn. De productieruimte is een 'cleanroom' die een hogere fysieke inperking biedt dan een standaard MI-II ruimte. Zo kan de ruimte pas betreden worden na het passeren van een sluis en heerst er in de productieruimte en de sluis een overdruk. Rondom de MI-II ruimte inclusief de sluis is een schil met onderdruk aangebracht. De COGEM is van mening dat met name deze onderdruk van belang is voor de inperking van het vaccinvirus bij een incident. Bovendien wordt zowel de aan- als afvoerlucht HEPA gefilterd, waardoor voorkomen wordt dat recombinant vaccinvirus in het milieu kan vrijkomen. De COGEM acht het MI-III inrichtingsvoorschrift, de aanwezigheid van een hydrofoob absoluutfilter in de

leidingen, niet noodzakelijk. De kans dat recombinant vaccinvirus via leidingen kan ontsnappen is gezien de aard van de werkzaamheden erg klein.

Bij morsincidenten zoals het breken van eieren, wordt schoongemaakt met een detergens (Sekusept) alvorens wordt overgegaan op desinfectie met ethanol of isopropanol. Bovendien biedt het gebruik van lekdichte bodemplaten bij breuk van een grote hoeveelheid eieren voldoende inperking. Tevens is er desinfectie met formaldehyde voorhanden indien er een breuk plaatsvindt van de flessen met allantoïsvloeistof. De COGEM is van mening dat de opgestelde procedures en de aanvullende maatregelen in geval van morsincidenten voldoende zijn om inperking van het vaccinvirus te bieden.

Gezien het bovenstaande acht de COGEM de werkprocedures, alsmede de aanvullende voorschriften, voldoende om gevolgen van een eventuele verspreiding door een incident te minimaliseren.

Productiemedewerkers

De eieren worden geïnoculeerd en geogst in een veiligheidskabinet van klasse II. Het betreft hier open handelingen waarbij niet volledig uit te sluiten is dat er geen recombinant influenzavirus door spatten of aërosolen in de werkruimte komt. Daarbij is besmetting van de ogen via direct of indirect contact van een productiemedewerker volgens de COGEM niet ondenkbaar. Daarnaast zou een productiemedewerker eventueel besmet kunnen raken bij het opruimen van gemorst materiaal.

De verspreiding van influenzavirussen vindt plaats door direct en indirect contact en door aërosolen (5; 6; 9). De ogen zijn een van de meest gevoelige organen voor influenzavirusinfecties bij de mens, aangezien receptoren voor aviaire influenza virussen veelvuldig voorkomen in het epitheel van het oog (18). Bovendien is de werking van het immuunsysteem in de ogen anders dan gebruikelijk ('immune privileged'), waardoor ooginfecties via de traanbuis gemakkelijk door kunnen dringen tot de neus en keelholte (19).

Hoewel de medewerker gevaccineerd is tegen humaan *Influenza A* virus kan niet met absolute zekerheid worden gesteld dat de medewerker geen influenzavirus bij zich draagt. Een griepvaccin is namelijk samengesteld uit HA en NA van influenza A en B stammen waarvan op basis van wereldwijde surveillancegegevens wordt verwacht dat ze zullen gaan circuleren in het betreffende seizoen. Het blijkt dat het vaccin 70-90% bescherming biedt (bij gezonde, immunocompetente mensen jonger dan 65 jaar) wanneer de vaccinstammen goed overeenkomen met de circulerende stammen (15). Indien een ander virus circuleert dan waarop het vaccin gebaseerd is, is niet uit te sluiten dat een gevaccineerd persoon toch een influenzavirus bij zich draagt.

Uitgaande van een 'worst case scenario' betekent dit dat uitwisseling van genoomsegmenten tussen het recombinante en 'normaal' humane virus kan plaatsvinden. Deze uitwisseling kan resulteren in een pathogeen humaan virus. Een besmette medewerker kan als infectiebron dienen voor zijn omgeving. Hierbij kan een productiemedewerker, het recombinant virus ook min of meer passief, meenemen en overdragen op andere personen in hun omgeving die geïnfecteerd kunnen zijn met een influenzavirus (6). Ook hier geldt dat de HA en NA genen van het recombinante vaccinvirus gecombineerd kunnen worden met de overige genoomsegmenten van de andere influenzavirussen.

De COGEM is van mening dat bij een eventuele uitwisseling van de bij de opschaling gebruikte vaccinstammen met een wildtype virus, de kans zeer klein is dat een gevaar voor de mens optreedt. In het ergste geval zullen de van oorsprong aviaire HA en NA segmenten terechtkomen in een humane virusstam. De COGEM verwacht niet dat een dergelijk virus hoogpathogeen zal zijn maar een toename van het replicatie- en transmissievermogen is niet geheel uit te sluiten. Dit zou mogelijk kunnen leiden tot lichte griepverschijnselen.

De door Bureau GGO voorgestelde aanvullende werkvoorschriften, waaronder het dragen van beschermende middelen zoals een mondkapje en een veiligheidsbril, bieden naar de mening van de COGEM voldoende bescherming van de productiemedewerker.

Inactivatie van vaccinvirus

Voordat het vaccin gereed is, wordt infectieus virus chemisch geïnactiveerd door 0,2% formaldehyde toe te voegen en dit 24 uur bij 37°C te incuberen. De aanvrager heeft experimentele data aangeleverd betreffende de inactivatie van het H5N3 vaccinvirus middels een gevalideerde assay. Uit deze data blijkt dat na enkele uren incubatie geen infectieus virus meer aangetoond wordt. De COGEM beschouwt deze voorgenomen inactivatiemethode als voldoende om te voorkomen dat het vaccin infectieus virus bevat.

Conclusie

De COGEM is van mening dat de risico's voor mens en milieu bij omlaagschaling van de beoogde werkzaamheden, met inachtneming van de aanvullende maatregelen, verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. VROM; Integrale versie van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen en het Besluit genetisch gemodificeerde organismen (2004).
2. Knipe, M. D. and Howley, P. M. (2001). *Fields Virology*. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia.
3. Van Regenmortel, M. H. V. (2000). Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego.
4. Brown, E. G. (2000). Influenza virus genetics. *Biomed Pharmacother* **54**, blz. 196-209.
5. Flint, S. J., Enquist, L. W., Racaniello, V. R., and Skalka, A. M. (2004). *Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control*. ASM Press, Washington, D.C.
6. Lewis, D. B. (2006). Avian flu to human influenza. *Annu Rev Med* **57**, blz. 139-54
7. Taubenberger, J. K. (1998). Influenza virus hemagglutinin cleavage into HA1, HA2: no laughing matter. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, blz. 9713-5.
8. World Health Organization. Internet: <http://www.who.int/en/> (21 maart 2006).
9. Riedel, S. (2006). Crossing the species barrier: the threat of an avian influenza pandemic. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* **19**, blz. 16-20
10. CGM/050201-01: Pathogeniteitstudies met recombinante Influenza A virussen.
11. CGM/060224-01: Vaccinontwikkeling voor humane influenza type H5N1.
12. CGM/060228-02: Grootschalige productie van influenza vaccins.
13. Liu M, Wood JM, Ellis T, Krauss S, Seiler P, Johnson C, Hoffmann E, Humberd J, Hulse D, Zhang Y, Webster RG, Perez DR. (2003). Preparation of a standardized, efficacious agricultural H5N3 vaccine by reverse genetics. *Virology* **314**, blz 580-590.
14. World Health Organization (WHO), Production of pilot lots of inactivated influenza vaccines from reassortants derived from avian influenza viruses. Interim biosafety risk assessment. (2003), no. WHO/CDS/CSR/RMD/2003.5
15. Landelijke Coördinatiestructuur Infectieziektenbestrijding, februari 2003. Internet: http://www.infectieziekten.info/bestanden/protocollen/Influenza_J10-11_protocol_03.pdf
16. Subbarao, K., Chen, H., Swayne, D., Mingay, L., Fodor, E., Brownlee, G., Xu, X., Lu, X., Katz, J., Cox, N., and Matsuoka, Y. (2003). Evaluation of a genetically modified reassortant H5N1 influenza A virus vaccine candidate generated by plasmid-based reverse genetics. *Virology* **305**, blz. 192-200
17. Hatta, M., Gao, P., Halfmann, P., and Kawaoka, Y. (2001). Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science* **293**, blz. 1840-2
18. Olofsson, S., Kumlin, U., Dimock, K., and Arnberg, N. (2005). Avian influenza and sialic acid receptors: more than meets the eye? *Lancet Infect Dis* **5**, blz. 184-8
19. Streilein, J. W., Wilbanks, G. A., and Cousins, S. W. (1992). Immunoregulatory mechanisms of the eye. *J Neuroimmunol* **39**, blz. 185-200