

Aan de minister van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. C. van Nieuwenhuizen-Wijbenga
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 4 februari 2020
KENMERK CGM/200204-02
ONDERWERP Advies omlaagschaling van werkzaamheden met levend-verzwakt genetisch gemodificeerd *Rift Valley fever virus* vaccin


Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag over het dossier IG 19-297_2.8-000 getiteld 'Evaluatie van een nieuw levend-verzwakt Rift Valley fever vaccin' van de Stichting Wageningen Research deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

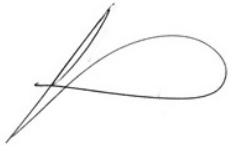
De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met een levend verzwakt genetisch gemodificeerd (gg-) *Rift Valley fever virus* (RVFV) vaccin genaamd RVFV-4s in schapen. RVFV kan ziekte veroorzaken bij herkauwers en de mens. Schapen, en in het bijzonder lammeren, zijn het meest vatbaar voor het virus. De COGEM heeft eerder geoordeeld dat RVFV-4s verzwakt is ten opzichte van wildtype RVFV en geadviseerd om werkzaamheden met het RVFV-4s vaccin op inperkingsniveau II in te schalen. De aanvrager verzoekt nu om dieren één dag na vaccinatie te mogen huisvesten op D-I in plaats van DM-II.

De COGEM is van oordeel dat de door de aanvrager aangeleverde gegevens aantonen dat het vaccinvirus RVFV-4s genetisch stabiel is en dat de kans verwaarloosbaar klein is dat RVFV-4s revertiert naar een virulent fenotype. Ook is de kans op verspreiding van het vaccinvirus vanuit de gevaccineerde dieren naar andere dieren of de mens verwaarloosbaar klein. Alles in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat het risico voor mens en milieu bij omlaagschaling van de voorgenomen werkzaamheden 24 uur na vaccinatie met RVFV-4s, van DM-II naar D-I inperkingsniveau verwaarloosbaar klein is. Tevens kan de COGEM instemmen met ontheffing voor het gebruik van een veiligheidskabinet klasse II bij de vaccinatiewerkzaamheden van schapen met RVFV-4s op DM-II, met in achtneming van een aantal aanvullende voorschriften.



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

Hoogachtend,



Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. J. Westra, Hoofd Bureau ggo
Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenW

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn de COGEM leden prof. dr. J. Kortekaas en dr. B.P.H. Peeters niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Omlaagschaling van werkzaamheden met levend-verzwakt genetisch gemodificeerd *Rift Valley fever virus* vaccin

COGEM advies CGM/200204-02

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de omlaagschaling van werkzaamheden met een levend verzwakt genetisch gemodificeerd (gg-) *Rift Valley fever virus* (RVFV) vaccin genaamd RVFV-4s, van DM-II naar D-I (IG 19-297) in schapen. Om het vaccin te kunnen registreren, wil de aanvrager onderzoeken of het vaccin 1 of 2 jaar na vaccinatie nog bescherming biedt tegen RVFV. De aanvrager is voornemens schapen intramusculair te injecteren met de vaccinstam onder DM-II inperking, en verzoekt de gevaccineerde dieren één dag na vaccinatie op D-I (gesloten verblijf en/of openluchtverblijf) te mogen huisvesten tot het moment dat de dieren 'gechallenged' worden met volvirulent RVFV. Dit laatste zal gebeuren op inperkingsniveau III en maakt geen onderdeel uit van de huidige vergunningaanvraag. Tevens vraagt de aanvrager ontheffing voor de aanwezigheid van een veiligheidskabinet klasse II (VK-II) in de DM-II-ruimte, aangezien het niet mogelijk is schapen in een VK-II te injecteren met het kandidaatvaccin.

1.1 *Rift Valley fever virus* (RVFV)

Het *Rift Valley fever virus* (RVFV) kan ziekte veroorzaken bij herkauwers (schapen, geiten, koeien en kamelen) en de mens.¹ Schapen, en in het bijzonder lammeren, zijn het meest vatbaar voor het virus met een mortaliteit van ongeveer 20-70% bij volwassen schapen tot 70-100% bij lammeren.² Infectie van drachtige schapen leidt vrijwel altijd tot abortus.² Bij mensen veroorzaakt het virus doorgaans griepachtige symptomen, hoewel bij een klein deel van de patiënten ernstigere verschijnselen kunnen ontstaan, zoals hemorragische koorts of hersen- en ruggenmergontsteking.^{1,3}

Het virus wordt voornamelijk verspreid door verschillende *Aedes* en *Culex* muggensoorten^{1,3,4}, echter besmetting zonder tussenkomst van vectoren is ook mogelijk.³ Mensen worden voornamelijk met RVFV besmet via (in)direct contact met bloed, weefsels of organen van geïnfecteerde dieren.^{5,6} Ook inhalatie van aërosolen die vrijkomen tijdens de slacht van geïnfecteerde dieren of tijdens laboratorium-werkzaamheden kan leiden tot humane infecties.^{3,6} Tevens zijn humane infecties door muggenbeten en steekvliegen gerapporteerd. Tot op heden is niet waargenomen dat het virus rechtstreeks van mens tot mens wordt overgedragen.^{3,6}

1.2 Genomische organisatie van RVFV

RVFV is een negatief-strengs RNA virus dat behoort tot het genus *Phlebovirus* en de familie *Phenuiviridae* (voorheen *Bunyaviridae*).⁷ Het genoom bestaat uit drie segmenten: het small (S), medium (M) en large (L) segment.⁸ Het S-genoomsegment codeert voor het nucleocapside eiwit N. Dit eiwit vormt samen met de RNA genoomsegmenten het zogenaamde 'nucleocapside'. Daarnaast codeert het S-genoomsegment voor het niet-structurele eiwit NSs dat onder andere betrokken is bij het onderdrukken van interferon-beta productie. Dit eiwit is niet essentieel voor het virus, maar speelt een belangrijke rol bij de virulentie van het RVFV.^{9,10,11,12,13,14,15} Het M-genoomsegment codeert voor het

glycoproteïne voorloperewit GPC dat na translatie gekleefd wordt in Gn en Gc en het niet-structurele eiwit NSm. De glycoproteïnen bevinden zich in het membraan van het virus, waardoor het virus aan doelwitcellen kan binden. Deze interactie resulteert in de opname van het virus in de cel. Het L-genoomsegment codeert voor het RNA polymerase L, dat verantwoordelijk is voor virale RNA synthese. De eiwitten L en N zijn essentieel voor RVFV replicatie. Aan de 5' en 3' uiteinden van de genoomsegmenten van RVFV bevinden zich de zogenaamde 'untranslated regions' of UTRs. Per genoomsegment L, M en S zijn deze UTRs verschillend in lengte en nucleotide volgorde. De UTRs zijn essentieel voor replicatie van de genoomsegmenten en voor het inpakken van de genoomsegmenten in virusdeeltjes.

2. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is voornemens werkzaamheden uit te voeren met vaccinvirus RVFV-4S-ΔNS (in het kort RVFV-4s genaamd). Deze variant is gebaseerd op het zogenaamde 35/74 RVFV isolaat. Het M segment in RVFV-4s is gesplitst in twee aparte segmenten, waarbij de twee genen (NSm)Gn en Gc ieder gecodeerd liggen op een apart genoomsegment. Hierdoor bevat het virusdeeltje in totaal vier genoomsegmenten. Daarnaast is het gen voor de virulentiefactor NSs uit het genoom verwijderd.¹⁹

Wildtype RVFV is door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.^{16,17} De COGEM heeft eerder geoordeeld dat variant RVFV-4s geattenuerd is ten opzichte van wildtype RVFV en geadviseerd om werkzaamheden met het RVFV-4s vaccin op inperkingsniveau II in te schalen.¹⁸

De aanvrager verzoekt nu om dieren één dag na vaccinatie te mogen huisvesten op D-I in plaats van DM-II. Ter onderbouwing van dit verzoek heeft de aanvrager additionele studies uitgevoerd om aan te tonen dat de vaccinstam RVFV-4s veilig is, het virus niet revertteert naar virulentie, niet verspreidt binnen het dier, niet verspreidt tussen dieren en niet verspreidt naar het milieu. Op basis van deze experimentele gegevens verzoekt de aanvrager om schapen mogen te vaccineren op DM-II met ontheffing voor het gebruik van een veiligheidskabinet klasse II, en gevaccineerde dieren 24 uur na vaccinatie op D-I (gesloten verblijf en/of openluchtverblijf) te mogen huisvesten. Tijdens de vaccinatiewerkzaamheden dragen de medewerkers handschoenen en een mond- en neuskapje (FFP2).

3. Overweging

De aanvrager verwijst naar resultaten van eerder uitgevoerde studies met RVFV-4s in muizen, lammeren, geiten en runderen.^{19,20,21,22} In geen van de experimenten met deze diersoorten traden klinische symptomen op na vaccinatie met RVFV-4s, ook niet na toediening van een 100-voudige overdosis in drachtige oöien, terwijl wel een sterke immuunrespons werd waargenomen.

In een ongepubliceerde experimentele vaccinstudie, die bijgevoegd is bij de aanvraag werden 4-weeken oude lammeren intramusculair gevaccineerd met een overdosis van RVFV-4s (10^7 TCID₅₀).²² Ongevaccineerde contact-dieren werden in dezelfde ruimte geplaatst. Toediening van RVFV-4s veroorzaakte geen klinische symptomen bij gevaccineerde dieren of contact-dieren. Bij de gevaccineerde dieren konden alleen kleine hoeveelheden van viraal RNA worden aangetoond in het bloed tot 2 dagen na vaccinatie. Er kon geen viraal RNA worden aangetoond in lever, milt en lymfeknopen van de gevaccineerde dieren. In het bloed en de organen van de contact-dieren kon viraal

RNA niet worden aangetoond. Orale en rectale swabmonsters van de gevaccineerde en ongevaccineerde dieren waren eveneens negatief voor viraal RNA.²²

De COGEM is van oordeel dat deze resultaten aantonen dat het RVFV-4s, geen viremie induceert en niet verspreidt naar organen in het lichaam van gevaccineerde dieren, en dat er geen transmissie plaatsvindt naar ongevaccineerde contact-dieren.

In celkweekexperimenten bleek het RVFV-4s gedurende >10 passages genetisch stabiel, dat wil zeggen dat er geen NSs kon worden aangetoond en dat de splitsing van het M-genoomsegment gehandhaafd bleef.¹⁹ In de door de aanvrager overlegde studie is tevens reversie naar virulentie onderzocht door lammeren intramusculaire te inoculeren met orgaansuspensies afkomstig van RVFV-4s gevaccineerde dieren. Dit veroorzaakte geen klinische symptomen, tevens kon er geen viraal RNA worden gedetecteerd in het plasma en orgaanmonsters van de dieren die de orgaansuspensies toegediend hadden gekregen. Dit toont aan dat er niet of nauwelijks replicatie van het vaccin in het gevaccineerde dier plaatsvindt, waardoor virustransmissie van dier-naar-dier niet mogelijk is.²²

De COGEM is van oordeel dat de aangeleverde gegevens aantonen dat de kans dat RVFV-4s kan reverteren naar een virulenter fenotype verwaarloosbaar klein is.

Samenvattend, is de COGEM van oordeel dat de door de aanvrager aangeleverde gegevens aantonen dat het vaccinvirus RVFV-4s geattenuerd en genetisch stabiel is. Ook de kans op verspreiding van het vaccinvirus vanuit de gevaccineerde dieren naar andere dieren of de mens is verwaarloosbaar klein.

Alles in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat bij omlaagschaling van de voorgenomen werkzaamheden van DM-II naar D-1 inperkingsniveau 24 uur na vaccinatie met RVFV-4s, het risico voor mens en milieu verwaarloosbaar klein is. Gezien de biologische karakteristieken van RVFV-4s kan de COGEM tevens instemmen met ontheffing voor het gebruik van een veiligheidskabinet klasse II bij de vaccinatiewerkzaamheden van schapen met RVFV-4s op DM-II. Onder inachtneming van de door de aanvrager voorgenomen aanvullende voorschriften (het dragen van handschoenen en een mond- en neuskapje (FFP2)), acht zij de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein indien de vaccinatiewerkzaamheden op DM-II worden uitgevoerd.

Referenties

1. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rift-valley-fever> (bezoekt: 29 januari 2020)
2. <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Rift-Valley-fever/> (bezoekt: 29 januari 2020)
3. <https://www.cdc.gov/vhf/rvf/transmission/index.html> (bezoekt 29 januari 2020)
4. Lumley *et al.* (2017) *Rift Valley fever virus: strategies for maintenance, survival and vertical transmission in mosquitoes*. J. Gen. Virol. 98: 875–887
5. The World Organisation for Animal Health (OIE). Disease Information Summaries. Rift Valley fever. <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Rift-Valley-fever/> (bezoekt: 31 januari 2020)

6. World Health Organization (WHO; 2010). *Rift Valley fever virus*. Factsheet no. 207. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rift-valley-fever> (bezoekt: 31 januari 2020)
7. ICTV. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezoekt 31 januari 2020)
8. Elliott RM *et al.* (2013). Chapter 42 *Bunyaviridae*. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
9. Billecocq A *et al.* (2004). NSs protein of *Rift Valley fever virus* blocks interferon production by inhibiting host gene transcription. *J. Virol.* 78: 9798-9806
10. Ikegami T *et al.* (2006). Rescue of infectious *Rift Valley fever virus* entirely from cDNA, analysis of virus lacking the NSs gene, and expression of a foreign gene. *J. Virol.* 80: 2933-2940
11. Muller R *et al.* (1995). Characterization of clone 13, a naturally attenuated avirulent isolate of *Rift Valley fever virus*, which is altered in the small segment. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 53: 405-411
12. Bouloy M *et al.* (2001). Genetic evidence for an interferon-antagonistic function of *Rift Valley fever virus* non-structural protein NSs. *J. Virol.* 75: 1371-1377
13. von Teichman B *et al.* (2011). Safety and efficacy of Rift Valley fever Smithburn and Clone 13 vaccines in calves. *Vaccine* 29: 5771-5777
14. Dungu B *et al.* (2010). Evaluation of the efficacy and safety of the Rift Valley Fever Clone 13 vaccine in sheep. *Vaccine* 28: 4581-4587
15. Crabtree MB *et al.* (2012). Infection and Transmission of Rift Valley Fever Viruses Lacking the NSs and/or NSm Genes in Mosquitoes: Potential Role for NSm in Mosquito Infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6: e1639
16. COGEM (2008). Inschaling van werkzaamheden met het genetisch *gemodificeerd Rift Valley fever virus* (RVFV). CGM/080313-05
17. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen (2019). CGM/190905-02
18. COGEM (2015). Advies Omlaagschaling werkzaamheden met gg-Rift Valley fever virus. CGM/150518-02
19. Wichgers Schreur PJ *et al.* (2014). Creation of Rift Valley fever viruses with four-segmented genomes reveals flexibility in bunyavirus genome packaging. *J. Virol.* 88: 10883-10893
20. Wichgers Schreur PJ *et al.* (2015). Four-segmented *Rift Valley fever virus* induces sterile immunity in sheep after a single vaccination. *Vaccine*, 33: 1459-1464
21. Wichgers Schreur PJ *et al.* (2017). Four-segmented *Rift Valley fever virus*-based vaccines can be applied safely in ewes during pregnancy. *Vaccine*. 35: 3123-3128
22. Wichgers Schreur PJ *et al.* Safety and efficacy of four-segmented *Rift Valley fever virus* in young 1 sheep, goats and cattle. *Manuscript in preparation*