

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

DATUM 6 oktober 2020
KENMERK CGM/201006-03
ONDERWERP Advies Inschaling productiewerkzaamheden met het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin tegen COVID-19

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het 2.8-verzoek IG 20-169_2.8-000 van Intervet International B.V. getiteld 'VSIV-vector based vaccine against COVID-19', deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:


De COGEM is gevraagd te adviseren over de omlaagschaling van werkzaamheden (ontdoeien, formuleren en het uitvullen in ampullen) met een genetisch gemodificeerd (gg-) Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV), waarvan het G-eiwit is vervangen door het Spike glycoproteïne (S) van het Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). De aanvrager verzoekt de werkzaamheden uit te voeren op MI-III. De productie van het vaccin (rVSIVΔG-CoV2-S) vindt plaats buiten Nederland.

VSIV veroorzaakt een ziekte in vee met symptomen die lijken op mond- en klauwzeer. SARS-CoV-2 heeft de mens als gastheer en is de veroorzaker van COVID-19. De COGEM heeft zowel VSIV als SARS-CoV-2 als klasse 3 pathogenen geïnclassificeerd.

De COGEM acht het aannemelijk dat rVSIVΔG-CoV2-S geïntenuerd is ten opzichte van wildtype VSIV. Echter, vanwege het ontbreken van experimentele gegevens is de COGEM niet in staat in te schatten in welke mate het rVSIVΔG-CoV2-S geïntenuerd is. Daarnaast kan op basis van de aangeleverde data geen uitspraak gedaan worden over de verandering van het tropisme en virulentie van deze vaccinkandidaat.

De COGEM is van oordeel dat bij de voorgenomen werkzaamheden de kans op verspreiding van rVSIVΔG-CoV2-S naar de productieruimte klein, maar niet geheel uitgesloten is. De kans op verdere uitsleep van rVSIVΔG-CoV2-S naar het milieu acht zij verwaarloosbaar klein, mits de buitenkant van de ampullen na het vullen niet besmet is en contact met gevoelige dieren door medewerkers wordt vermeden. Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM om de grootschalige werkzaamheden met rVSIVΔG-CoV2-S vaccin in te schalen op MI-III, met inbegrip van de door de aanvrager/BGGO voorgestelde aanvullende maatregelen en de hierboven door de COGEM genoemde maatregelen aangaande de ampullen en de medewerkers.

De COGEM signaleert dat voordat dit kandidaatvaccin getest kan worden in klinische studies, experimentele gegevens betreffende eventuele milieurisico's beschikbaar en door onafhankelijke experts beoordeeld moeten zijn, omdat vooralsnog milieurisico's zoals mogelijke verspreiding naar gevoelige diersoorten niet volledig uit te sluiten zijn.



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
 - Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en Milieurisico's
 DG Milieu en Internationaal

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. ir. G.P. Pijlman niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Inschaling productiewerkzaamheden met het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin tegen COVID-19

COGEM advies CGM/201006-03

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een 2.8-verzoek (IG 20-169) van Intervet International B.V. voor de omlaagschaling van activiteiten met een genetisch gemodificeerd (gg-) Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV), waarvan het G-eiwit is vervangen door het Spike glycoproteïne (S) van het Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Het betreft een vaccinkandidaat (rVSIVΔG-CoV2-S) tegen COVID-19, die buiten Nederland geproduceerd zal worden. De werkzaamheden omvatten het ontdoeien, de formulering en het uitvullen in ampullen van rVSIVΔG-CoV2-S in een zogenaamde ‘cleanroom’ productie- en vulruimte.

De aanvrager geeft aan dat volgens bijlage 5 van de Regeling ggo¹ de werkzaamheden voor grootschalige productie plaats dienen te vinden op inperkingsniveau MI-IV, en verzoekt een omlaagschaling van de werkzaamheden met het ggo, dat hij als geattenuëerd beschouwd, naar MI-III.

1.1 Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV)

Het Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV, ook wel VSV genoemd) behoort binnen de familie van de *Rhabdoviridae* tot het genus *Vesiculovirus*.² De ‘International Committee on Taxonomy’ (ICTV) heeft in 2016 de soortnaam van VSIV gewijzigd in *Indiana vesiculovirus*.³

VSIV heeft als primaire gastheren knaagdieren, vee, varkens en paarden.⁴ Het virus is enzoötisch in de Verenigde Staten, Midden-Amerika en een deel van Zuid-Amerika, en veroorzaakt vesiculaire stomatitis bij runderen, schapen, varkens en paarden. Deze ziekte is besmettelijk, wordt gekenmerkt door blaasjes op de tong, het tandvlees, de uiers en de hoeven van de dieren, en lijkt sterk op mond-en-klauwzeer.^{5,6} Vesiculaire stomatitis wordt door de Wereldorganisatie voor diergezondheid (OIE) niet meer als meldingsplichtige dierziekte gekenmerkt, maar is in Nederland nog wel aangifteplichtig.^{7,8,9} Een uitbraak van VSIV kan tot grote economische schade leiden. Het virus wordt overgedragen door insecten, via direct contact met wondjes op de huid van besmette dieren, of via inhalatie van virus bevattende aerosolen.^{5,6,10}

VSIV kan ook mensen infecteren. Infectie vindt vaak plaats via blootstelling aan geïnfecteerde dieren. Ook is infectie door blootstelling aan het virus in het laboratorium beschreven.^{4,6} De humane infecties verlopen meestal zonder klinische verschijnselen, hoewel sommige mensen griepachtige symptomen ontwikkelen.^{4,11} In zeer uitzonderlijke gevallen kan encefalitis optreden na infectie met VSIV.¹² Verspreiding tussen mensen onderling is niet gerapporteerd.¹³

VSIV heeft een niet-gesegmenteerd negatief enkelstrengs RNA-genoom. De virusdeeltjes worden omhuld door een membraan.^{6,11} Het genoom codeert voor vijf eiwitten: het ‘nucleoproteïne’ (N), het ‘phosphoproteïne’ (P), het ‘large proteïne’ (L), het ‘matrixproteïne’ (M) en het ‘glycoproteïne’ (G). De N-, L- en P-eiwitten vormen een RNA-afhankelijk RNA-polymerase complex dat verantwoordelijk is voor zowel virale transcriptie als replicatie. Het G-eiwit zit in het membraan verankerd en is betrokken bij de

hechting aan en fusie met de gastheercel. Het M-eiwit speelt een belangrijke rol in de constructie van het virus, remming van de genexpressie van de gastheer, virus ‘budding’ en apoptose (geprogrammeerde celdood).^{6,14,15} VSIV kent een breed celtropisme. De ‘low density lipoprotein’ receptor (LDLR) en leden van de LDLR familie zijn geïdentificeerd als de cellulaire receptoren voor VSIV infectie.¹⁶

1.2 Het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin

Het gg-vaccin rVSIVΔG-CoV2-S is een chimeer virus gebaseerd op VSIV, waarbij het G-eiwit is vervangen door het S-eiwit van SARS-CoV-2. De aanvrager geeft aan dat het een chimeer virus betreft met verhoogde replicatie-eigenschappen en een geoptimaliseerd S-eiwit, verkregen na selectie door seriële passage van rVSIVΔG-CoV2-S in cellen.

Het Ebolavirus-vaccin rVSIVΔG-ZEBOV, dat is toegelaten voor vaccinatie tegen ebola onder de naam Ervebo¹⁷, is gebaseerd op hetzelfde VSIV vaccinplatform. De aanvrager stelt dat de vervaardiging van rVSIVΔG-CoV2-S identiek is aan die van rVSIVΔG-ZEBOV, met als verschil dat er een ander transgen geïnsereerd is. Over het rVSIVΔG-ZEBOV vaccin heeft de COGEM eerder geadviseerd¹⁸ (zie ook onder paragraaf ‘Eerder COGEM advies’). rVSIVΔG-ZEBOV is aan meer dan 20.000 mensen toegediend in fase I-III klinische studies, en door hen goed getolereerd.^{19,20}

1.3 Voorgenomen werkzaamheden

Het gg-vaccin zal in het buitenland worden geproduceerd. Na ontvangst in Boxmeer, zal de aanvrager het virus opslaan in de vriezer, ontdooien, formuleren en uitvullen (‘fill and finish’), verpakken en bewaren tot verdere distributie voor vaccinatie. Hiervoor zal het gg-vaccin worden ontdooid in een gesloten unit en via een gesloten systeem worden overgebracht naar een ‘single use mixing bag’ (SUM) met een maximaal volume van 650 liter. Na de vermenging in de SUM zal het product via een gesloten systeem worden aangesloten op de afvullijnen, waarna het vaccin zal worden uitgevuld in 10 ml ampullen (ongeveer 7 ml per ampul). Medewerkers zijn gescheiden van de afvullijnen door een ‘restricted access barrier system’ (RABS). Eventueel gevormde aerosolen tijdens het uitvullen in de ampullen, zullen worden afgezogen door ‘local exhaust ventilation’ (LEV) en via een HEPA-filter opgevangen. De ampullen zullen worden afgesloten door een rubberen stop en een metalen dop. Na inspectie, zullen de ampullen worden verpakt en opgeslagen voor verdere distributie voor vaccinatie. De aanvrager verzoekt de bovenstaande werkzaamheden op MI-III inperkingsniveau te mogen uitvoeren. Het vermeerderen van het vaccinvirus maakt geen deel uit van de voorgenomen handelingen.

2. Eerder COGEM advies

SARS-CoV-2 is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.²¹ De COGEM heeft VSIV ingedeeld als dierpathogeen in pathogeniteitsklasse 3.²² De COGEM heeft meerdere malen geadviseerd over de inschaling van werkzaamheden met G-eiwit gedeleteerde VSIV (VSIVΔG) chimereën met gensequenties van heterologe oppervlakte-eiwitten,^{e.g.18,23,24} of VSIVΔG gepseudotypeerd met heterologe oppervlakte-eiwitten.²⁵

In 2016 adviseerde de COGEM over het chimere virus gg-VSIV-ZEBOV, waarbij het gen coderend voor het G-eiwit van VSIV is vervangen voor het GP-gen van het Ebolavirus.¹⁸ Op basis van vaccinatiestudies bij mensen en dieren, achtte de COGEM gg-VSIV-ZEBOV voldoende geattenuerd

ten opzichte van wildtype VSIV om omlaagschaling van ML-III naar ML-II niveau te rechtvaardigen, onder inachtneming van enkele aanvullende voorschriften. De COGEM stemde in 2018 eveneens in met omlaagschaling van ML-III naar ML-II voor werkzaamheden met een vergelijkbaar gg-virus, waarbij het G-coderende gen vervangen is voor het GPC-gen van Lassavirus, VSVΔG/LASVGPC.²⁴

3. Overweging en advies

VSIV is een diervirus; infectie van mensen is mogelijk, maar er is tot op heden geen verspreiding van mens op mens gerapporteerd. Voor de overweging van de inschaling van de productiewerkzaamheden van rVSIVΔG-CoV2-S spelen een aantal aspecten een rol, die hieronder puntsgewijs zullen worden behandeld.

3.1 Attenuering van rVSIVΔG-CoV2-S

In het vaccin rVSIVΔG-CoV2-S is het gen coderend voor het G-eiwit van VSIV vervangen voor het gen dat codeert voor het S-eiwit van SARS-CoV-2. De aanvrager geeft aan dat een chimeer virus met verhoogde replicatie-eigenschappen en een geoptimaliseerd S-eiwit is geselecteerd na seriële passage van het gg-virus op cellen. In een vertrouwelijke bijlage van het dossier verstrekt de aanvrager een globale omschrijving over de mutaties die zijn ontstaan in het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin.

De aanvrager stelt dat rVSIVΔG-CoV2-S *in vivo* en *in vitro* geattenuerd zal zijn ten opzichte van het wildtype VSIV, vanwege de deletie van het gen coderend voor het G-eiwit, en overlegt literatuur waarin de attenuering van VSIVΔG beschreven wordt.^{19,26} Door de insertie van het S-gen, verwacht de aanvrager dat het rVSIVΔG-CoV2-S nog verder geattenuerd zal zijn. De aanvrager overlegt ter onderbouwing hiervan literatuurgegevens over verschillende van VSIV-afgeleide vaccins tegen Ebola- en Marburgvirus^{19,27,28}, Lassavirus²⁷, Human immunodeficiency virus (HIV)²⁹ en Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)³⁰, evenals twee artikelen betreffende dierstudies met andere VSIV-SARS-CoV2 vectoren^{31,32}, maar experimentele gegevens over de attenuering van rVSIVΔG-CoV2-S zijn niet beschikbaar.

In analogie met vergelijkbare VSIV-constructen waarbij het gen coderend voor het G-eiwit is vervangen door een gen coderend voor een heteroloog oppervlakte-eiwit,^{19,27,28,29,30,31,32} acht de COGEM het aannemelijk dat rVSIVΔG-CoV2-S geattenuerd is ten opzichte van wildtype VSIV. Door selectie door herhaalde passage in cellen zijn additionele mutaties ontstaan in het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin die van invloed zijn op de replicatie-eigenschappen van het gg-virus *in vitro*. Vanwege het ontbreken van onderbouwende gegevens uit *in vitro* en *in vivo* experimenten in de aanvraag, is het voor de COGEM niet mogelijk om te bepalen in welke mate het rVSIVΔG-CoV2-S geattenuerd is, en wat de invloed is van de geselecteerde mutaties op replicatie van het gg-vaccin *in vivo*. De COGEM wijst erop dat de mate van attenuering mogelijk ook afhangt van de wijze van inoculatie (intramusculair versus middels inhalatie), echter ook hierover kan de COGEM geen verdere uitspraken doen in afwezigheid van experimentele data.

3.2 Tropisme van rVSIVΔG-CoV2-S

De aanvrager geeft aan dat het S-eiwit zal worden opgenomen in de rVSIVΔG-CoV2-S virusdeeltjes, waardoor het tropisme van het chimere virus veranderd is. Verder stelt de aanvrager dat hierdoor het tropisme van rVSIVΔG-CoV2-S in vergelijking met het ebolavaccin rVSIVΔG-ZEBOV verder beperkt is. Infectie van cellen door wildtype SARS-CoV-2 vindt plaats via de receptor van het S-eiwit, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE-2),^{33,34} en is afhankelijk van de aanwezigheid van transmembrane serine protease TMPRSS2.³⁵ De aanvrager overlegt literatuurgegevens waaruit blijkt dat slechts in een klein aantal cellen in de luchtwegen en het darmkanaal zowel ACE-2 als TMPRSS2 tot expressie komen.³⁵ Dit zou betekenen dat rVSIVΔG-CoV2-S minder cellen kan infecteren dan rVSIVΔG-ZEBOV, wat het vaccin volgens de aanvrager veiliger maakt dan het toegelaten ebolavaccin, zelfs indien het zou worden toegediend door inhalatie.

De aanvrager verwacht beperkte pathologie en afwezigheid van virulentie van het vaccin door het beperkte tropisme van rVSIVΔG-CoV2-S. Eveneens verwacht de aanvrager geen nadelige reacties bij intramusculaire toediening van het vaccin, gebaseerd op de veronderstelde attenuering van rVSIVΔG-CoV2-S en de resultaten uit fase I-III klinische testen van het ebola-vaccin rVSIVΔG-ZEBOV. Er zijn geen experimentele gegevens overlegd over het veranderde tropisme en de virulentie van het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin.

Het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin uit de vergunningaanvraag betreft een replicatiecompetent gg-virus, waarbij het G-eiwit dat een belangrijke virulentiefactor is en verantwoordelijk is voor de aanhechting van wildtype VSIV aan de LDL-receptor, vervangen is door het S-eiwit van SARS-CoV-2. Het S-eiwit van SARS-CoV-2 is verantwoordelijk voor de binding aan de cellulaire receptor ACE-2 en infectie van de gastheercellen en speelt een belangrijke rol in de pathogeniteit van en immuniteit tegen het virus.

De COGEM acht het aannemelijk dat incorporatie van het S-eiwit in rVSIVΔG-CoV2-S tot een verandering in tropisme kan leiden ten opzichte van wildtype VSIV. Mogelijk zal het tropisme van rVSIVΔG-CoV2-S beperkter zijn dan van wildtype VSIV door de afwezigheid van het G-eiwit, dat voor een breed tropisme zorgt (VSIV kan vrijwel alle humane cellen, en daarnaast ook verschillende andere organismen infecteren).³⁶ Echter, zonder experimentele gegevens kunnen hierover geen harde uitspraken gedaan worden. De bewering van de aanvrager dat het tropisme van rVSIVΔG-CoV2-S verder beperkt is ten opzichte van rVSIVΔG-ZEBOV, is op basis van de aangeleverde informatie niet te verifiëren. De COGEM wijst erop dat gebleken is dat rVSIVΔG-ZEBOV net als wildtype VSIV in staat is keratinocyten te infecteren.¹⁹ Dit suggereert dat er, naast de (heterologe) oppervlakte-eiwitten, nog andere factoren van het VSIV bepalend kunnen zijn voor het tropisme van chimere VSIV-virussen. Daarnaast lijkt het tropisme van SARS-CoV-2 zich niet te beperken tot long- of darmweefsel, aangezien een natuurlijke infectie met het virus ook schade lijkt aan te richten in onder andere zenuwweefsel, het hart en nieren.^{37,38,39,40,41,42} Voor de onderhavige vergunningaanvraag, waarbij de werkzaamheden grootschalige productie onder ingeperkte omstandigheden betreffen, is een mogelijk tropismeverandering echter niet van invloed op de uitkomsten van de milieurisicobeoordeling.

3.3 Verspreiding in het milieu

Zoals eerder in het advies is aangegeven, is VSIV een diervirus. VSIV kan mensen infecteren, maar

transmissie tussen mensen is tot op heden niet gerapporteerd. Aangenomen wordt dat de aangeboren immuniteit (onder meer door de productie van interferon-alfa en -beta) verantwoordelijk is voor het zelf-limiterende karakter van een infectie met VSIV.^{19,43} Om die reden is het niet aannemelijk dat de transmissie van het gg-vaccin tussen mensen mogelijk zal zijn, wanneer het oppervlakte-eiwit van VSIV is vervangen voor het S-eiwit in het rVSIVΔG-CoV2-S virusdeeltje. Zo is er ook voor het ebolavaccin rVSIVΔG-ZEBOV, waarbij de receptor voor het ingebrachte Ebolavirus GP-eiwit alleen voorkomt in mensen en apen, geen transmissie van mens op mens waargenomen.¹⁹

VISV kan uiteenlopende diersoorten infecteren. Ook SARS-CoV-2 kan naast de mens meerdere zoogdieren infecteren, waaronder honden, katachtigen en nertsen. Het S-eiwit van SARS-CoV-2 blijkt te kunnen hechten aan de ACE-2 receptor van meerdere verschillende zoogdiersoorten^{48,44}, wat suggereert dat het rVSIVΔG-CoV2-S meerdere diersoorten zou kunnen infecteren en mogelijk zou kunnen verspreiden tussen dieren. De COGEM merkt op dat bij milieu-introductie eventuele milieurisico's van het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin niet op voorhand zijn uit te sluiten en alleen beoordeeld kunnen worden wanneer experimentele gegevens beschikbaar zijn, bij voorkeur in relevante en gevoelige diermodellen, zoals het varken en de hamster.^{45,46}

3.4 Werkzaamheden met rVSIVΔG-CoV2-S

De werkzaamheden betreffen het proces van ontdooien, het vermengen tot de gewenste concentratie, tot en met het afvullen van de ampullen met rVSIVΔG-CoV2-S. De aanvrager geeft aan dat de SUM zich bij het overbrengen van het ontdooide product in een mobiele SUM-houder bevindt, die zal worden omringd door een flexibele lekbak. De SUM zal eerst met medium worden gevuld voordat het gg-virus zal worden toegevoegd, waarmee de integriteit van de SUM kan worden gecontroleerd. De SUM wordt opgesteld in een ruimte aangrenzend aan de vulruimte en via een 'rapid transfer port' steriel aangesloten op de vullijnen in de RABS in de productieruimte via 'welding' of een aseptische aansluiting. De verschillende onderdelen zullen worden voorgespoeld met buffer om lekkage van het systeem te kunnen uitsluiten. De RABS waarbinnen het uitvullen in de ampullen zal plaatsvinden, is een gesloten systeem, en kan in geval van een spil door de productiemedewerkers via handschoenen worden bediend zonder het systeem te openen. In combinatie met het afzuigen door de LEV, acht de aanvrager verspreiding van het gg-vaccin vanuit de RABS naar de productieruimte niet mogelijk. In geval er toch verspreiding uit de RABS naar de ruimte plaatsvindt, wordt verdere verspreiding naar buiten tegengegaan door onder meer de aanwezigheid van onderdruk in de productieruimte, materiaal- en personensluizen, HEPA-filters op de afvoer van uitgaande lucht en kledingvoorschriften voor de medewerkers. Tevens zijn er procedures voor het opvangen en de inactivatie van gecontamineerde vloeistoffen tot de maximale gebruikte hoeveelheid van 650 liter in de SUM en het omgaan met calamiteiten.

Gecontamineerde vloeistoffen worden via een gesloten systeem afgevoerd naar een desinfectie-unit in het gebouw en door middel van een gevalideerde methode gedecontamineerd (hitte-inactivatie of chemische decontaminatie). Gecontamineerde materialen worden gedesinfecteerd in een gevalideerde destructie-autoclaaf, of door chemische desinfectie; gecontamineerde apparatuur zal eerst worden gedesinfecteerd voordat het de productieruimte verlaat.

Het proces van ontdoien, formuleren en uitvullen in ampullen van rVSIVΔG-CoV2-S via de SUM aangesloten op de afvullijnen in de RABS, vindt plaats in een volledig gesloten systeem. Op basis van de verstrekte informatie over het productieproces en het aansluiten van de verschillende units via ‘welding’ of aseptische aansluitingen, in combinatie met het controleren op lekkage van de systemen door vullen met medium of voorspoelen met buffer, is de COGEM van oordeel dat de kans op verspreiding van rVSIVΔG-CoV2-S naar de productieruimte zeer klein is, maar niet volledig uitgesloten kan worden (zo zou bij het vullen van de SUM of de koppeling met de RABS mogelijk verspreiding kunnen optreden).

Verdere verspreiding van het gg-vaccin naar het milieu wordt tegengegaan door de inrichting van de productieruimte en aanvullende maatregelen zoals onder meer de kledingvoorschriften voor medewerkers en de (spil)protocollen. Hoewel niet expliciet aangegeven in de aanvraag, gaat de COGEM er vanuit dat ook de SUM in een MI-III ruimte is opgesteld. De COGEM merkt verder op dat hoewel de aanvrager aangeeft dat gecontamineerde apparatuur of materialen en vloeibaar afval door middel van gevalideerde methoden gedesinfecteerd worden, en dat er (spil)protocollen zijn in geval van incidenten tijdens de vulprocedure, de aanvrager niet ingaat op de mogelijkheid van contaminatie van de buitenkant van de gevulde ampullen, voordat deze worden verpakt en opgeslagen. De COGEM wijst op het belang van waarborging dat de buitenkanten van de ampullen niet besmet zijn, om op die manier onbedoelde uitsleep van het gg-vaccin buiten de ingeperkte ruimte te voorkomen.

De COGEM kan niet volledig uitsluiten dat een medewerker in de productieruimte in aanraking komt met rVSIVΔG-CoV2-S. De COGEM wijst erop dat wanneer er in het onderzoeksveld of bedrijfsleven gewerkt wordt met aangifteplichtige diervirussen (waar VSIV onder valt), het gebruikelijk is dat een betrokken medewerker tot drie dagen na het uitvoeren van werkzaamheden met deze virussen geen contact heeft met dieren die voor deze virussen bevattelijk zijn. Aangezien er geen experimentele gegevens beschikbaar zijn over de (rest)pathogeniteit en verspreiding van rVSIVΔG-CoV2-S in (landbouwhuis)dieren, adviseert de COGEM de aanvrager deze gangbare beheersmaatregel na te volgen ten einde de kans op een eventuele besmetting van bevattelijke dieren met rVSIVΔG-CoV2-S te minimaliseren, en de impact van mogelijke consequenties te voorkomen.

4. Conclusie

Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM om de productiewerkzaamheden met het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin in te schalen op MI-III, met inbegrip van de door de aanvrager en Bureau GGO voorgestelde aanvullende maatregelen. Daarnaast merkt de COGEM op dat de aanvrager ervoor moet zorgdragen dat de buitenkant van de ampullen niet gecontamineerd zijn met gg-virus en adviseert de COGEM dat medewerkers tot drie dagen na de handelingen met rVSIVΔG-CoV2-S geen contact mogen hebben met dieren die voor deze virussen bevattelijk zijn.

Op genoemd inperkingsniveau en onder navolging van de aanvullende werkvoorschriften acht de COGEM de risico's van de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

5. Signalering

De COGEM wijst erop dat de werkzaamheden in de onderhavige vergunningaanvraag vooruitlopend zijn op latere klinische studies. Hierbij zal het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin getest worden op effectiviteit en veiligheid met als uiteindelijke doel de vaccinatie van grote groepen mensen ter bescherming tegen COVID-19.

Experimentele gegevens over de attenuering, het tropisme en de virulentie van rVSIVΔG-CoV2-S ontbreken in de onderhavige aanvraag en hiervoor wordt (vooralsnog) verwezen naar (klinische) data van vergelijkbare VSIV-vaccinconstructen. Voor deze aanvraag onder Ingeperkt Gebruik zijn deze experimentele gegevens over de mate van attenuering en mogelijkheid tot verspreiding van ondergeschikt belang, aangezien de kans op verspreiding in het milieu van rVSIVΔG-CoV2-S verwaarloosbaar klein is, wanneer de productiewerkzaamheden worden uitgevoerd op MI-III met de voorgenomen en geadviseerde aanvullende maatregelen.

Echter, bij een klinische studie zal het vaccin, dat een replicatiecompetent gg-virus betreft met mogelijk veranderd tropisme, geïntroduceerd worden in het milieu. Hoewel voor de constructie van het vaccin gebruik wordt gemaakt van een eerder toegepast vaccinplatform, ontbreken experimentele gegevens (bijvoorbeeld door onderzoek in verschillende (gevoelige) diermodellen) over de mate van attenuering, het tropisme en de mogelijkheid tot uitscheiding en verspreiding bij mens en dier, waardoor een goede inschatting van het milieurisico van vaccinatie met rVSIVΔG-CoV2-S op dit moment niet mogelijk is.

Bij verschillende (pre)klinische studies is gekeken naar de uitscheiding van rVSIVΔG-ZEBOV, waarbij gebleken is dat viremie op kan treden en er in zeer beperkte mate uitscheiding plaatsvindt.^{19,47} Door insertie van het S-eiwit in rVSIVΔG-CoV2-S, met ACE-2 als receptor die wijd verspreid is in verschillende zoogdiersoorten⁴⁸, zou dit een ander milieurisico met zich mee kunnen brengen dan bij rVSIVΔG-ZEBOV, waarbij de receptor voor het ingebrachte Ebolavirus GP-eiwit alleen voorkomt in mensen en apen. Daarnaast is uit vaccinonderzoek met rVSIVΔG-ZEBOV in varkens gebleken dat deze dieren na vaccinatie klinische symptomen kunnen ontwikkelen die vergelijkbaar zijn met de symptomen die gepaard gaan met een wildtype VSIV infectie en niet met ebolavirus infectie. Dit suggereert dat er mogelijk andere virulentiefactoren in de 'VSIV-backbone' aanwezig zijn die in gevoelige diersoorten ziekte kunnen veroorzaken.¹⁹

De bovenstaande overwegingen zullen bekend zijn bij de ontwikkelaar of producent van dit vaccin en de COGEM gaat ervan uit dat deze *in vitro* en met name *in vivo* experimenten zal uitvoeren in relevante en gevoelige diermodellen teneinde eventuele risico's te kunnen uitsluiten. De COGEM wijst op het belang dat deze gegevens beoordeeld worden door onafhankelijke experts. Sinds 18 juli j.l. is de EU-verordening van kracht waarin de milieuriscobeoordeling buiten werking is gesteld voor klinische studies met ggo's ten behoeve de behandeling van COVID-19.⁴⁹ Dit betekent dat er geen instantie is die de mogelijke milieurisico's van het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin zal bekijken.

De COGEM signaleert het belang dat een onafhankelijke instantie of onafhankelijke experts de gegevens over de milieurisico's van rVSIVΔG-CoV2-S, zoals mogelijke verspreiding naar gevoelige

diersoorten en de eventuele effecten daarvan, beoordeelt, alvorens het als vaccin toegepast kan worden. Zodoende kunnen milieurisico's voorkomen worden en kunnen de betrokken overheden de veiligheid van mens en milieu waarborgen.

Referenties

1. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. Bijlage 5. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2020-07-01#Bijlage5> (bezocht: 30 september 2020)
2. International Committee on Taxonomy of Viruses. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht: 24 september 2020)
3. International Committee on Taxonomy of Viruses. The online (10th) report of the ICTV. *Indiana vesiculovirus*. https://talk.ictvonline.org/taxonomy/p/taxonomy-history?taxnode_id=20171794 (bezocht: 24 september 2020)
4. Lichty BD *et al.* (2004). Vesicular stomatitis virus: re-inventing the bullet. *Trends Mol. Med.* 10: 210-216
5. Letchworth GJ *et al.* (1999). Vesicular stomatitis. *Vet. J.* 157: 239-60
6. Lyles DS *et al.* (2013). *Rhabdoviridae*. In: *Fields Virology*, 6th ed.. Ed. Knipe MD & Howley PM. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia
7. World Organisation for Animal Health (OIE). OIE-Listed diseases, infections and infestations in force in 2020. <https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/oie-listed-diseases-2020/> (bezocht: 24 september 2020)
8. Wettenbank. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0018397> (bezocht: 24 september 2020)
9. Nederlandse Voedsel- en Waren Autoriteit. www.nvwa.nl/onderwerpen/dierziekten/lijst-aangifteplichtige-dierziekten/aangifteplichtige-dierziekten-bij-vee (bezocht: 24 september 2020)
10. Rozo-Lopez P *et al.* (2018). Vesicular stomatitis virus transmission: A comparison of incriminated vectors. *Insects* 9: 190
11. International Committee on Taxonomy of Viruses. *Genus: Vesiculovirus*. https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/negative-sense-rna-viruses/mononegavirales/w/rhabdoviridae/805/genus-vesiculovirus (bezocht: 24 september 2020)
12. Quiroz E *et al.* (1988). A human case of encephalitis associated with vesicular stomatitis virus (Indiana serotype) infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39: 312-314
13. Public Health Agency of Canada (2012). www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/vesicular-stomatitis-virus.html (bezocht: 24 september 2020)
14. Ahmed M *et al.* (2003). Ability of the matrix protein of vesicular stomatitis virus to suppress beta interferon gene expression is genetically correlated with the inhibition of host RNA and protein synthesis. *J. Virol.* 77: 4646-4657
15. von Kobbe C *et al.* (2000). Vesicular stomatitis virus matrix protein inhibits host cell gene expression by targeting the nucleoporin Nup98. *Mol. Cell* 6: 1243-1252
16. Finkelshtein D *et al.* (2013). LDL receptor and its family members serve as the cellular receptors for vesicular stomatitis virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 110: 7306-7311.

17. European Medicines Agency. <https://www.ema.europa.eu/en/news/first-vaccine-protect-against-ebola> (bezoekt 2 oktober 2020)
18. COGEM (2016). Omlaagschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg)-Vesicular stomatitis Indiana virus. COGEM advies CGM/160310-01
19. Monath T.P. *et al.* (2019). rVSV Δ G-ZEBOV-GP (also designated V920) recombinant vesicular stomatitis virus pseudotyped with Ebola Zaire Glycoprotein: Standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine: X* 1: 100009
20. Bache B.E. *et al.* (2020). Safety, immunogenicity and risk–benefit analysis of rVSV- Δ G-ZEBOV-GP (V920) Ebola vaccine in Phase I–III clinical trials across regions. *Future Microbiol.* 15: 85-106
21. COGEM (2020). Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met het nieuwe coronavirus 2019-nCoV uit Wuhan. COGEM advies CGM/200211-01
22. COGEM (2011). Classificatie van Vesicular stomatitis virus en inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde VSV deeltjes. COGEM advies CGM/110815-03
23. COGEM (2016). Inschaling werkzaamheden met HIV-Env gepseudotypeerd gg-Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV).COGEM advies CGM/161221-01
24. COGEM (2018). Inschaling van werkzaamheden met Vesicular stomatitis Indiana virus voorzien van het oppervlakte-eiwit van Lassa virus. COGEM advies CGM/181025-01
25. COGEM (2016). Omlaagschaling van werkzaamheden met gepseudotypeerd, ‘single-round’ genetisch gemodificeerd Vesicular stomatitis Indiana virus. COGEM advies CGM/160502-04
26. Whitt MA (2010). Generation of VSV pseudotypes using recombinant Δ G-VSV for studies on virus entry, identification of entry inhibitors, and immune responses to vaccines. *J. Virol. Meth.* 169: 365-374.
27. Garbutt M *et al.* (2004). Properties of Replication-Competent Vesicular Stomatitis Virus Vectors Expressing Glycoproteins of Filoviruses and Arenaviruses. *J. Virol.* 78: 5458-5465
28. Jones S *et al.* (2005). Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. *Nat. Med.* 11: 786-790
29. Fuchs J.D. *et al.* (2015). First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a recombinant vesicular stomatitis virus human immunodeficiency virus-1 gag vaccine (HVTN 090). *Open Forum Infect Dis.* 2: ofv082. doi: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv082>.
30. Liu R *et al.* (2018). A recombinant VSV-vectored MERS-CoV vaccine induces neutralizing antibody and T cell responses in rhesus monkeys after single dose immunization . *Antiviral Res.* 150: 30-38
31. Yahalom-Ronen Y. *et al.* (2020). A single dose of recombinant VSV- Δ G-spike vaccine provides protection against SARS-CoV-2 challenge. bioRxiv doi: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.06.18.160655v1>
32. Case J.B. *et al.* (2020). Replication-competent vesicular stomatitis virus vaccine vector protects against SARS-CoV-2-mediated pathogenesis in mice. *Cell Host Microbe* 28: 465-474.e4
33. Wang Q *et al.* (2020). Structural and functional basis of SARS-CoV-2 entry by using human ACE2. *Cell* 181: 894-904
34. Gheblawi M *et al.* (2020). Angiotensin-converting enzyme 2: SARS-CoV-2 receptor and regulator of the renin-angiotensin system. *Circ. Res.* 126: 1456-1474

35. Sungnak W *et al.* (2020). SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat. Med.* 26: 681-687
36. Hastie E *et al.* (2013). Understanding and altering cell tropism of vesicular stomatitis virus. *Virus Res.* 176: doi:10.1016/j.virusres.2013.06.003
37. Scientias. COVID-19 in verband gebracht met (soms ernstige) Neurologische problemen. <https://www.scientias.nl/covid-19-in-verband-gebracht-met-soms-ernstige-neurologische-problemen/> (bezocht: 30 september 2020)
38. Nature. How COVID-19 can damage the brain. <https://www.nature.com/articles/d41586-020-02599-5> (bezocht: 30 september 2020)
39. Flores G (2020). SARS-CoV-2 (COVID-19) has neurotropic and neuroinvasive properties. *International Journal of clinical Practice*, doi: 10.1111/IJCP.13708
40. Soltani Zangbar, H., Gorji, A. & Ghadiri, T. A Review on the Neurological Manifestations of COVID-19 Infection: a Mechanistic View. *Mol Neurobiol* (2020). <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02149-0>
41. Vijayan A, Humphreys BD. SARS-CoV-2 in the kidney: bystander or culprit? *Nat Rev Nephrol.* 2020 Sep 14:1–2. doi: 10.1038/s41581-020-00354-7
42. Topol EJ (2020). COVID-19 can affect the heart. *Science* [published online ahead of print, 23 september]. doi: 10.1126/science.abe2813.
43. Van den Broek MF *et al.* Immune defence in mice lacking type I and/or type II interferon receptors. *Immunol Rev* 1995;148:5–18
44. Damas J *et al.* (2020). Broad host range of SARS-CoV-2 predicted by comparative and structural analysis of ACE2 in vertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 117:22311-22322
45. Saito T *et al.* (2020). A Surrogate Animal Model for Screening of Ebola and Marburg Glycoprotein-Targeting Drugs Using Pseudotyped Vesicular Stomatitis Viruses. *Viruses* 12: E923. doi: 10.3390/v12090923
46. Rosenke *et al.* (2020). Defining the Syrian hamster as a highly susceptible preclinical model for SARS-CoV-2 infection. *bioRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.09.25.314070>
47. Fathi A *et al.* (2019). Recombinant vesicular stomatitis virus vector vaccines for WHO blueprint priority pathogens. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 15: 2269-2285
48. Conceicao C *et al.* (2020). The SARS-CoV-2 Spike 1 protein has a broad tropism for mammalian ACE2 proteins. *bioRxiv preprint* doi: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156471>
49. Verordening (EU) 2020/1043 van het Europees Parlement en de Raad van 15 juli 2020 betreffende de uitvoering van klinische proeven met geneesmiddelen voor menselijk gebruik die geheel of gedeeltelijk uit genetisch gemodificeerde organismen bestaan en die bestemd zijn voor de behandeling of de voorkoming van de coronaviruziekte (COVID-19), alsmede de levering van die geneesmiddelen. *Publicatieblad van de Europese Unie*, 17.7.2020, L231/12