

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. V.L.W.A. Heijnen  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 30 mei 2022  
**KENMERK** CGM/220530-01  
**ONDERWERP** Advies inschaling werkzaamheden r-BCG-PGL-1

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffend het dossier IG 22-065\_2.8-000 getiteld 'Toevoegen nieuwe bacterie stam r-BCG PGL-1 aan werkzaamheden op niveau II', deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) *Mycobacterium bovis* BCG. In deze gg-bacterie (r-BCG-PGL-1) is het eigen 'Phenolic glycolipid 1' (PGL-1) uitgewisseld met het PGL-1 van *Mycobacterium leprae*. De aanvrager wenst r-BCG-PGL-1 te gebruiken om verschillende soorten cellen te infecteren, en verzoekt de werkzaamheden uit te mogen voeren op inperkingsniveau ML-II onder inachtneming van enkele aanvullende voorwaarden.

*M. bovis* BCG is een verzwakte stam die al ruime tijd op grote schaal wordt gebruikt als vaccin tegen tuberculose. *M. leprae* is een ziekteverwekkende bacterie die lepra kan veroorzaken. PGL-1 is een belangrijke celwandcomponent en is in *M. leprae* betrokken bij het veroorzaken van ziekte. PGL-I is vereist voor het vermogen van *M. leprae* om zenuwcellen te infecteren en remt de afweerreactie van de gastheer.

Op basis van de gegevens in de wetenschappelijke literatuur en aanvullende informatie die door de aanvrager is bijgevoegd, is de COGEM van oordeel dat niet kan worden vastgesteld dat de uitwisseling van het PGL-I van *M. bovis* BCG voor het PGL-I van *M. leprae*, geen invloed heeft op het vermogen ziekte te veroorzaken in *M. bovis* BCG. De COGEM adviseert derhalve de voorgenomen werkzaamheden met r-BCG-PGL-1 uit te voeren op inperkingsniveau ML-III.



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.

- Drs. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

***Met het oog op eventuele belangenverstrengeling, is COGEM lid dr. M.C.W. Feltkamp niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.***

# Inschaling infectiewerkzaamheden met recombinant *Mycobacterium bovis* BCG-PGL-I

## COGEM advies CGM/220530-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met 'recombinant *Mycobacterium bovis* BCG' die het 'phenolic glycolipide 1' (PGL-1) van *Mycobacterium leprae* produceert in plaats van het eigen PGL-1 (IG 22-065). De aanvraag is afkomstig van het Leids Universitair Medisch Centrum (LUMC). De aanvrager is voornemens de genetisch gemodificeerde (gg) *Mycobacterium bovis* BCG PGL-1 (r-BCG-PGL-1) te gebruiken om animale cellen en cellijnen te infecteren. De aanvrager verzoekt de werkzaamheden uit te mogen voeren op inperkingsniveau ML-II met inachtneming van enkele aanvullende maatregelen.

### 2. *Mycobacterium bovis*

*Mycobacterium bovis* behoort tot het *Mycobacterium tuberculosis* complex, een groep die meerdere bacteriesoorten behelst die de ziekte tuberculose (TB) veroorzaken. *M. bovis* is een langzaam groeiende bacterie met een verdubbelingstijd van 16-24 uur en is de hoofdveroorzaker van TB in dieren, waaronder gedomesticeerde koeien. De bacterie heeft een breed gastheerbereik en kan vele zoogdieren infecteren, inclusief de mens.<sup>3</sup> Natuurlijke reservoirs van *M. bovis* zijn onder andere Nieuw-Zeelandse buidelratten (*Trichosurus vulpecula*), Europese dassen (*Meles meles*), kafferbuffels (*Syncerus caffer*), wilde zwijnen (*Sus scrofa*) en herten in Noord-Amerika (*Odocoileus virginianus*).<sup>1</sup> Een *M. bovis* infectie kan zich onder gedomesticeerde koeien verspreiden door het inhaleren van geïnfecteerde aerosolen van een hoestend of niezend dier met open TB, of via besmette stofdeeltjes.<sup>2</sup> In koeien vindt voornamelijk horizontale overdracht van *M. bovis* plaats.<sup>2</sup> Humane TB veroorzaakt door *M. bovis* komt vooral voor in ontwikkelingslanden door consumptie van ongepasteuriseerde melkproducten.<sup>3</sup> De symptomen van humane TB veroorzaakt door *M. bovis* zijn koorts, zwakheid, nachtelijk zweten en gewichtsverlies.<sup>3</sup>

#### 2.1 *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG)

*Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG) is een laboratoriumstam die ontstaan is door continue seriële *in vitro* passage van *M. bovis* gedurende een periode van 13 jaar.<sup>4</sup> BCG is bijna een eeuw geleden ontwikkeld als een geattenuëerd levend vaccin tegen TB.<sup>4,5</sup> Het heeft in tegenstelling tot *M. bovis* geen natuurlijke niches. BCG mist de 'Region of Difference 1' (RD1) genoomsequentie, waardoor deze stam sterk geattenuëerd is. Deze sequentie is aanwezig in virulente stammen van *M. tuberculosis* en *M. bovis* en codeert voor belangrijke virulentiefactoren.<sup>4,5</sup> Na het ontstaan van de originele *M. bovis* BCG stam in 1921 zijn er door sub-kweken meerdere BCG sub-stammen geproduceerd die verschillen in mate van virulentie.<sup>4</sup> In de Regeling ggo is *M. bovis* BCG geclassificeerd als klasse 2 pathoog.<sup>6</sup>

### 3. *Mycobacterium leprae*

*Mycobacterium leprae* is in 1873 voor het eerst beschreven, maar infecteert al zeer lange tijd mensen:

de bacterie is gevonden in skeletten uit India uit 2000 voor Christus.<sup>7,8</sup> *M. leprae* is een intracellulaire bacterie die, wegens het ontbreken van vele genen die benodigd zijn voor essentiële (groei)processen, afhankelijk is van een gastheer en vooralsnog niet *in vitro* te kweken is.<sup>9</sup> De verdubbelingstijd van *M. leprae* bedraagt 11-14 dagen en de optimale groeitemperatuur is ongeveer 30 °C.<sup>10</sup> De bacterie verspreidt zich via het bloed (hematogeen) en infecteert voornamelijk macrofagen en Schwann-cellen in de perifere zenuwen, met een voorkeur voor de extremiteiten, oorlellen, neus, testes en wenkbrauwen.<sup>10</sup> In Schwann-cellen induceert *M. leprae* verschillende processen die de afbraak van de myelineschede tot gevolg hebben.<sup>11</sup>

Het is niet geheel bekend hoe de bacterie wordt overgedragen, maar verondersteld wordt dat verspreiding voornamelijk respiratoir plaatsvindt. Verticale transmissie van moeder naar kind is beschreven, en huidcontact of verspreiding via besmette oppervlakten of voorwerpen (fomieten) zou een mogelijke besmettingsroute kunnen zijn.<sup>11,12</sup>

### 3.1 Lepra

*Mycobacterium leprae* veroorzaakt de ziekte lepra.<sup>11</sup> Jaarlijks worden er ongeveer 200.000 nieuwe ziektegevallen gediagnosticeerd.<sup>13</sup> De meeste diagnoses worden gesteld in India, Brazilië en Indonesië.<sup>14</sup> De mens is de voornaamste besmettingsbron, maar er is bewijs voor zoönotische overdracht van *M. leprae* vanuit gordeldieren (*Dasyus novemcinctus*). Tevens is de bacterie aangetroffen in de rode eekhoorn (*Sciurus vulgaris*) en in verscheidene non-humane primaten.<sup>15,16</sup>

De incubatietijd van *M. leprae* kan oplopen van minder dan een jaar tot tientallen jaren.<sup>10</sup> Kolonisatie van de gastheer met *M. leprae* leidt niet altijd tot ziekte: 80% van de besmette individuen elimineert hoogstwaarschijnlijk de bacterie direct en van de overige 20% maakt het grootste deel de ziekte subklinisch door. In ongeveer 0,1-2% van de geïnficeerden treedt daadwerkelijk symptomen van lepra op. Symptomatische ziekte kan leiden tot de kenmerkende huidlaesies en/of polyneuropathieën. Aantasting van de perifere zenuwen kan leiden tot sensibiliteitsverlies, paresthesiën en autonome veranderingen. Behalve de perifere zenuwen en de huid kunnen ook de ogen, testes, lever, gewrichten en botten worden aangetast. Naast het sluipende beloop van lepra, treden er dikwijls kenmerkende, zogeheten 'lepreareacties' op.<sup>10</sup> Er bestaan verschillende typen lepreareacties, waarbij onder meer ontsteking van de zenuwen, opzwellen van bestaande of nieuwe huidlaesies, pijnlijke erythemateuze 'noduli', oedeem en/of hoge koorts kan optreden.<sup>11</sup> Deze reacties zijn ernstig of levensbedreigend, kunnen spontaan of tijdens de behandeling tegen *M. leprae* ontstaan, en worden veroorzaakt door een sterke, ongebalanceerde immunoreactie.<sup>11</sup> Snelle behandeling is noodzakelijk om o.a. blijvende zenuwschade te voorkomen.<sup>11</sup>

Afhankelijk van de immunrespons van de gastheer tegen *M. leprae* kan de presentatie van de ziekte verschillen. Deze worden volgens de klassieke classificatie van Ridley en Jopling<sup>17</sup> als spectrum in vijf groepen verdeeld: tuberculoid (TT), borderline tuberculoid (BT), mid-borderline (BB), borderline lepromateus (BL) en lepromateus (LL).

### 4. De recombinante bacterie r-BCG-PGL-I

In de recombinante bacterie r-BCG-PGL-I is het eigen 'phenolic glycolipid I' (PGL-I) in *M. bovis* BCG vervangen door het PGL-I van *M. leprae*. PGL-1 is een verbinding die bestaat uit een lipidekern met

een aromatische nucleus die is geglycosyleerd met een trisaccharide (suikergroep), en is een component van de celwand.<sup>18</sup> De lipidekern is geconserveerd in verschillende *Mycobacterium* soorten, zoals *M. tuberculosis* en *M. bovis*, maar de saccharidegroepen zijn soortspecifiek. De fenolische glycolipiden (PGL's) zijn belangrijke virulentiefactoren in mycobacteriumsoorten, en dragen in *M. bovis* BCG bij aan de bescherming tegen *M. tuberculosis*.<sup>19</sup> De PGL's in mycobacteriën zijn tevens dikwijls betrokken bij de remming van de immuunrespons door de vorming van pro-inflammatoire cytokinen te inhiberen, en zijn geassocieerd met een hypervirulent fenotype in bepaalde *M. tuberculosis* isolaten.<sup>19</sup>

De PGL-1 specifiek voor *M. leprae* is in 1981 ontdekt en komt in grote hoeveelheden voor op de celwand van de bacterie.<sup>20,21</sup> Er worden hoge titers antilichamen gevormd tegen de unieke suikergroepen van PGL-1, wat kan bijdragen aan de diagnostiek voor lepra.<sup>20</sup> PGL-1 is in *M. leprae* een belangrijke virulentiefactor. De suikergroepen binden aan het G-domein van de  $\alpha 2$ -keten van laminine-2 in het basale membraan van Schwann-cellen in de perifere zenuwen, en zijn verantwoordelijk voor het vermogen van *M. leprae* om Schwann-cellen te infecteren.<sup>18,22</sup> Net als *M. leprae* bindt gezuiverd PGL-I, maar ook de gg-bacterie r-BCG-PGL-I, aan Schwann-cellen en induceert het de demyelinisatie van deze cellen. Wildtype *M. bovis* BCG en *M. bovis* BCG die het PGL-I van *M. tuberculosis* tot expressie brengt, vertoonden deze activiteiten op Schwann-cellen niet.<sup>23</sup> *Mycobacterium marinum*, die het PGL-I van *M. leprae* tot expressie brengt, induceert in een zebrafischn model productie van overmatige stikstofdioxide in macrofagen, wat in de vissen leidt tot demyelinisatie en zenuwbeschadiging.<sup>24</sup>

Uit laboratoriumonderzoek is gebleken dat r-BCG-PGL-I, in vergelijking tot wildtype *M. bovis* BCG, via de complement receptor 3 (CR3) gemakkelijker macrofagen kan infecteren en de immuunrespons kan remmen.<sup>18</sup> PGL-I en r-BCG-PGL-I modifieren cytokine- en chemokine-reacties in monocyten op een wijze die ook gezien wordt bij *M. leprae*, terwijl dit effect niet door de PGL-I homolog in *M. bovis* BCG wordt veroorzaakt.<sup>25</sup> Tevens is aangetoond dat PGL-1 van *M. leprae* de inductie van T-cel responsen door dendritische cellen, en de ontwikkeling en activatie van dendritische cellen remt.<sup>12</sup>

## 5. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft eerder geadviseerd over de inschaling van vaccinatiewerkzaamheden in makaken met twee recombinante *M. bovis* BCG stammen.<sup>26</sup> Deze werkzaamheden betroffen zogeheten 'endosomal escape' varianten die een betere immuniserende werking hebben, waardoor een sterkere MHC klasse 1 antigeenpresentatie optreedt. In het advies oordeelde de COGEM dat, gezien het langdurige en wereldwijde gebruik van wildtype *M. bovis* BCG als vaccinstam, de veiligheid van BCG voldoende is aangetoond. De COGEM beschouwde beide gg-BCG stammen als geattenuerd ten opzichte van de BCG ouderstam. Op basis van het geringe pathogene karakter en de beperkte mate van overdracht van de gg-BCG stammen, was de COGEM van oordeel dat de voorgenomen werkzaamheden op ML-I/DM-I niveau uitgevoerd konden worden met een verwaarloosbaar klein risico voor mens en milieu.

Een gg-BCG stam die het *listeriolysine* gen tot expressie brengt is gebruikt voor een klinische studie in patiënten met blaaskanker.<sup>27</sup> De COGEM beschouwt deze gg-BCG stam als verzwakt ten opzichte van de ouderstam en apathogeen voor mens en dier en oordeelde dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met gg-BCG verwaarloosbaar klein zijn.

*M. leprae* is door de COGEM ingedeeld in pathogeniteitsklasse 3.<sup>28</sup> De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over werkzaamheden met gg-*M. Bovis* BCG stammen waar sequenties van klasse 3 pathogenen zijn geïnsereerd.

## 6. Werkzaamheden en voorstel inschaling

De aanvrager is voornemens om met r-BCG-PGL-1, waarin het gastheereigen PGL-I van *M. bovis* BCG is vervangen door het PGL-I van *M. leprae*, animale cellen en cellijnen te infecteren. Volgens Bijlage 5 (5.3.f) van de Regeling ggo<sup>6</sup> dienen activiteiten waarbij PG-3 inserties in PG-2 organismen zijn geïnsereerd, ingeschaald te worden op inperkingsniveau ML-III. De aanvrager verzoekt om omlaagschaling van de werkzaamheden en levert literatuurgegevens en *in vivo* data, op basis waarvan de aanvrager stelt dat r-BCG-PGL-1 geen verhoogde pathogeniteit heeft in muizen in vergelijking met de wildtype *M. bovis* BCG-stam. De aanvrager stelt voor de werkzaamheden op inperkingsniveau ML-II uit te voeren, en daarbij de volgende aanvullende maatregelen in acht te nemen:

- Tijdens de werkzaamheden worden handschoenen gedragen;
- Open handelingen worden in een veiligheidskabinet van klasse II uitgevoerd.

## 7. Overweging en advies

*Mycobacterium bovis* BCG is een sterk geattenueerde stam van *M. bovis* die op zeer grote schaal gebruikt wordt als vaccin tegen TB.<sup>4,5</sup> *Mycobacterium leprae* is een pathogene bacterie die in mensen en bepaalde dieren de ziekte lepra kan veroorzaken.<sup>14,15,16</sup> Een ernstig gevolg van lepra is de schade aan de perifere zenuwen ten gevolge van de infectie en demyelinisatie van Schwann-cellen.<sup>23</sup>

In de stam van onderhavige aanvraag, r-BCG-PGL-I, is het PGL-I van *M. bovis* BCG uitgewisseld voor het PGL-I van *M. lepra*. PGL-1 bevindt zich op de celwand van o.a. *M. bovis*, *M. tuberculosis* en *M. leprae*. PGL-1 is verantwoordelijk voor het vermogen van *M. leprae* om Schwann-cellen te infecteren<sup>18</sup> en is voor de bacterie noodzakelijk om in deze cellen te persisteren.<sup>22</sup> Door het uitwisselen van PGL-1 is niet uit te sluiten dat r-BCG-PGL-I een gewijzigd tropisme zal vertonen en in staat zal zijn Schwann-cellen te infecteren. Tevens zorgt PGL-I van *M. leprae* voor demyelinisatie van de perifere zenuwen, met mogelijke zenuwschade als gevolg.<sup>23,24</sup> Van r-BCG-PGL-I is aangetoond dat deze recombinante bacterie in staat is aan Schwann-cellen te binden en, net als *M. leprae*, de demyelinisatie van deze cellen kan induceren. PGL-I heeft een remmende werking op het immuunsysteem.<sup>12</sup> In de literatuur is beschreven dat r-BCG-PGL-1, toegenomen besmettelijkheid voor macrofagen vertoont en de immunrespons in deze cellen remt.<sup>18</sup>

De COGEM is van oordeel dat niet uit te sluiten is dat het tropisme van r-BCG-PGL-I is veranderd en dat deze stam zich beter kan handhaven in bepaalde cellen of weefsels ten opzichte van de wildtype BCG-stam.

De aanvrager heeft resultaten van *in vivo* experimenten bijgevoegd, waar tot 75 dagen het aantal 'colony forming units' per ml (CFU/ml) van r-BCG-PGL-1 en wildtype BCG in de longen van SCID-muizen is vastgesteld. Ook is een grafiek bijgevoegd waar gedurende 65 dagen het gewicht van C57/Bl6-muizen is gemeten na toediening van wildtype *M. bovis* BCG en van r-BCG met het PGL-1 van *M. leprae* of

*M. tuberculosis*. In deze proeven zijn geen statistisch significante verschillen aantoonbaar tussen *M. bovis* BCG en r-BCG-PGL-I en het aantal CFU/ml in de longen van SCID-muizen of het uiteindelijke gewicht van de C57/Bl6-muizen.

De COGEM merkt op dat een beschrijving van de experimentele opzet van de proeven ontbreekt, en het niet bekend is op welke wijze en met welke dosis de muizen zijn geïnoculeerd. De gegevens geven geen informatie over de eventuele veranderingen in tropisme, persistentie of langetermijneffecten op zenuwfuncties, terwijl deze factoren belangrijk zijn voor het inschatten van de mogelijke pathogeniteit van r-BCG-PGL-I. De COGEM is van oordeel dat uit de bijgeleverde *in vivo* experimenten niet kan worden geconcludeerd dat de uitwisseling van PGL-1 van *M. leprae* in r-BCG-PGL-1 geen invloed op de pathogeniteit heeft.

Het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat niet kan worden uitgesloten dat de insertie van *M. leprae* PGL-1 in *M. bovis* BCG de pathogeniteit van *M. bovis* BCG verhoogt. De COGEM adviseert de voorgenomen werkzaamheden met r-BCG-PGL-1 uit te voeren op inperkingsniveau ML-III. Op dit inperkingsniveau is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

## Referenties

1. Palmer MV (2013). *Mycobacterium bovis*: characteristics of wildlife reservoir hosts. *Transbound Emerg. Dis.* doi: 10.1111/tbed.12115.
2. Cousins DV (2001). *Mycobacterium bovis* infection and control in domestic livestock. *Rev. Sci. Tech.* 20:71-85
3. Esteban J & Muñoz-Egea MC (2016). *Mycobacterium bovis* and Other Uncommon Members of the *Mycobacterium tuberculosis* Complex. *Microbiol. Spectr.* doi: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0021-2016
4. Liu J *et al.* (2009). BCG vaccines: their mechanisms of attenuation and impact on safety and protective efficacy. *Hum. Vaccin.* 5: 70-78
5. Mahairas GG *et al.* (1996). Molecular analysis of genetic differences between *Mycobacterium bovis* BCG and virulent *M. bovis*. *J. Bacteriol.* 178: 1274-1282
6. Regeling ggo milieubeheer 2013. wetten.nl - Regeling - Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 - BWBR0035072 (overheid.nl)
7. Irgens LM (1984). The discovery of *Mycobacterium leprae*. A medical achievement in the light of evolving scientific methods. *Am. J. Clin. Dermatol.* 6: 337-343
8. Robbins G *et al.* (2009). Ancient skeletal evidence for leprosy in India (2000 BC). *PloS One* 4: e56669
9. Urban C *et al.* (2021). One health approaches to trace *Mycobacterium leprae*'s zoonotic potential through time. *Front. Microbiol.* 12: DOI=10.3389/fmicb.2021.762263
10. RIVM – Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding, lepra richtlijn. [Lepra | LCI richtlijnen \(rivm.nl\)](#) (bezocht: 18-05-2022)
11. Mungoo MR *et al.* (2020). *Mycobacterium leprae*: Pathogenesis, diagnosis, and treatment options. *Microb. Pathog.* 149: 104475
12. Pinheiro RO *et al.* (2018). Innate immune responses in leprosy. *Front. Immunol.* 9: 518

13. WHO (2020). Global leprosy (Hansen disease) update, 2019: time to step-up prevention initiatives– Situation de la lèpre (maladie de Hansen) dans le monde, 2019: le moment est venu d'intensifier les initiatives de prévention. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 95, 417–438.
14. CDC Hansen's Disease (Leprosy), World Leprosy Day [World Leprosy Day: Bust the Myths, Learn the Facts | Hansen's Disease \(Leprosy\) | CDC](#) (bezocht: 23-05-2022)
15. Avanzi *et al.* (2016). Red squirrels in the British Isles are infected with leprosy bacilli. *Science* 354: 744-747
16. Honap *et al.* (2018). *Mycobacterium leprae* genomes from naturally infected nonhuman primates. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12:e0006190. doi: 10.1371/journal.pntd.0006190
17. Ridley DS & Jopling WH (1966). Classification of leprosy according to immunity. A five-group system. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* 34: 255-273
18. Tabouret G *et al.* (2010). *Mycobacterium leprae* phenolglycolipid-1 expressed by engineered *M. bovis* BCG modulates early interaction with human phagocytes. *PLoS Pathog.* 6: 10 e1001159
19. Tran V *et al.* (2016). Loss of lipid virulence factors reduces the efficacy of the BCG vaccine. *Sci. Rep.* 6: 29076
20. Spencer JS & Brennen PJ (2011). The role of *Mycobacterium leprae* Phenolic Glycolipid I (PGL-I) in serodiagnosis and in the pathogenesis of leprosy. *Lepr. Rev.* 82: 344-357 C
21. Hunter SW & Brennan PJ (1981). A novel phenolic glycolipid from *Mycobacterium leprae* possibly involved in immunogenicity and pathogenicity. *J. Bact.* 147: 728-735
22. Vincent Ng *et al.* (2000). Role of the cell wall phenolic glycolipid-1 in the peripheral nerve predilection of *Mycobacterium leprae*. *Cell* 103: 511-524
23. Díaz Acosta CC *et al.* (2018). PGL I expression in live bacteria allows activation of a CD206/PPAR $\gamma$  cross-talk that may contribute to successful *Mycobacterium leprae* colonization of peripheral nerves. *PLoS Pathog.* 14: e1007151
24. Madigan CA *et al.* (2017). A macrophage response to *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid initiates nerve damages in leprosy. *Cell* 170: 973-985
25. Manca C *et al.* (2012). Modulation of the cytokine response in human monocytes by *Mycobacterium leprae* phenolic glycolipid-1. *J. Interferon Cytokine Res.* 32: 27-34
26. COGEM (2007). Inschaling van vaccinatie van makaken met de genetisch gemodificeerde *Mycobacterium bovis* stam Calmette-Guérin. COGEM advies CGM/070402-05
27. COGEM (2018). Klinische studie met genetisch gemodificeerd *Mycobacterium bovis* BCG in patiënten met blaaskanker. COGEM advies CGM/180111-01