

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

DATUM 05 september 2023  
KENMERK CGM/230905-03  
ONDERWERP Advies inschaling werkzaamheden met MERS-ChAdOx1 vaccin in apen

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende het dossier getiteld 'Effectiviteit van een ChAdOx1-MERS vaccin in niet-humane primaten' (IG 23-116\_III-000), ingediend door het Biomedical Primate Research Centre in Rijswijk, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met een genetisch gemodificeerd (gg)-vaccin gebaseerd op de adenovirale (AdV-)vector ChAdOx1. In deze vector is de sequentie coderend voor het oppervlakte-eiwit (S-eiwit) van het MERS coronavirus (MERS-CoV) ingebracht. De aanvrager wil met dit vaccin vaccinatieproeven in apen uitvoeren, waarbij de dieren ook blootgesteld worden aan wildtype MERS-CoV. De aanvrager verzoekt de werkzaamheden op DM-III uit te voeren, waarbij aanvullende beschermende maatregelen in acht worden genomen.

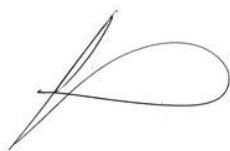
MERS-CoV is verwant aan *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (SARS-CoV) en SARS-CoV-2. MERS-CoV wordt echter voornamelijk overgedragen van dromedarissen naar mensen door contact met geïnfecteerde dieren. Infectie met MERS-CoV bij de mens kan asymptomatisch, mild, of zeer ernstig verlopen. De AdV-vector ChAdOx1 wordt al langere tijd toegepast voor vaccinatiedoeleinden is tevens wereldwijd ingezet voor de vaccinatie tegen SARS-CoV2 (Vaxzevria van AstraZeneca).

De COGEM acht de kans dat er recombinatie optreedt tussen MERS-CoV en het MERS-ChAdOx1 zeer onwaarschijnlijk. De COGEM is van oordeel dat een eventueel gevormd gg-MERS-CoV geen hogere pathogeniteit of fitness zal hebben dan het wildtype MERS-CoV waar mee gewerkt wordt. De COGEM kan derhalve instemmen met de voorgestelde inschaling van de werkzaamheden en de aanvullende beschermingsmaatregelen die hierbij gehanteerd zullen worden. Op het geadviseerde inperkingniveau in combinatie met de voorgestelde aanvullende maatregelen, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu, verwaarloosbaar klein 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.

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

# Inschaling van werkzaamheden met een MERS-CoV vaccin afgeleid van de adenovirale vector ChAdOx1 in apen

## COGEM advies CGM/230905-03

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden met een vaccin tegen het *Middle East respiratory syndrome-related coronavirus* (MERS-CoV) gebaseerd op de chimpansee adenovirus vector ChAdOx1 (IG 23-116). De aanvrager, het Biomedical Primate Research Centre (BPRC) in Rijswijk, wil een gg-MERS-ChAdOx1 vaccin ontwikkelen waarin een synthetisch gen (codon geoptimaliseerd voor humane toepassing) dat codeert voor het S-eiwit van MERS-CoV geïnsereerd is. Met dit gg-MERS-ChAdOx1 vaccinvirus wil de aanvrager een vaccinstudie uitvoeren in apen (*Macaca mulatta* en *Macaca fascicularis*) waarbij de dieren na vaccinatie ‘gechallenged’ worden met wildtype MERS-CoV om de effectiviteit van het vaccin te bepalen. De aanvrager verzoekt de vaccinproeven uit te voeren op inperkingsniveau DM-III, met inbegrip van enkele aanvullende voorschriften.

### 2. MERS-CoV

MERS-CoV behoort tot de orde *Nidovirales* (suborder *Cornidovirineae*), familie *Coronaviridae* (subfamilie *Orthocoronavirinae*), genus *Betacoronavirus* en subgenus *Merbecovirus*.<sup>1</sup> MERS-CoV is in de zomer van 2012 ontdekt bij een patiënt met acute longontsteking en nierfalen in Saudi-Arabië,<sup>2</sup> en uit retrospectieve data is gebleken dat het virus al eerder dat jaar in verschillende patiënten met ernstige luchtweginfecties in een ziekenhuis in Jordanië aanwezig was.<sup>3</sup> Het virus is verwant aan *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (SARS-CoV en SARS-CoV-2) die eveneens in het genus *Betacoronavirus* ingedeeld zijn.<sup>4</sup> MERS-CoV wordt voornamelijk overgedragen van dromedarissen naar mensen door contact met geïnfecteerde dieren.<sup>5</sup> Infectie met MERS-CoV bij de mens kan asymptomatisch, mild, of zeer ernstig verlopen. De meest voorkomende klachten zijn koorts, hoesten en benauwdheid, en in sommige gevallen kan ook een longontsteking optreden. Ook gastro-intestinale klachten kunnen voorkomen. In ernstige gevallen kunnen acute luchtwegproblemen ontstaan waardoor kunstmatige beademing noodzakelijk is, en multi-orgaanfalen. De mortaliteit van MERS-CoV wordt 35% geacht, maar dit is mogelijk een overschatting omdat milde gevallen meestal niet gerapporteerd zijn.<sup>6</sup> Ouderen, (chronisch) zieke mensen of mensen met een niet goed functionerend immuunsysteem lijken meer risico te lopen op een ernstiger ziekteverloop na infectie met MERS-CoV.

Sinds 2012 hebben meer dan 80% van de ziektegevallen plaatsgevonden in Saudi-Arabië, de overige ziektegevallen waren verspreid over 27 landen.<sup>7</sup> Aangezien de clusters van infecties beperkt zijn gebleven tot individuen (medewerkers in ziekenhuizen en familieleden) die veelvuldig contact hadden met MERS-CoV geïnfecteerde patiënten, lijkt de transmissie van mens-op-mens niet efficiënt te verlopen.<sup>7,8,9,10</sup> Tot dusver zijn er nog geen vaccins of specifieke medicijnen beschikbaar tegen MERS. Sinds 2013 is MERS-CoV als meldingsplichtige ziekte aangemerkt.<sup>11</sup>

### *Genoomorganisatie MERS-CoV*

MERS-CoV is een positief enkelstrengs RNA virus met een genoom van ca. 30 kb groot. De virusdeeltjes worden omhuld door een lipidemembraan. Het genoom bevat twee grote 'open reading frames' (ORF's 1a en 1b) die het grootste deel van het genoom omvatten en coderen voor polyproteïnen die door virale proteases worden geknipt in 16 niet-structurele eiwitten (nsp1 t/m nsp16) die het replicatie-transcriptie complex vormen.<sup>7</sup> Daarnaast zijn in het 3'-uiteinde van het genoom meerdere kleinere ORF's aanwezig die coderen voor de structurele eiwitten (spike (S), het nucleocapside (N), het membraan (M), en het envelop (E) eiwit) en accessoire eiwitten. Het S-eiwit is bepalend voor het tropisme van het virus en kan door gastheerproteasen geknipt worden in 2 subunits (S1 en S2). S1 bevat een receptor-bindend domein, dat kan binden aan de dipeptidyl peptidase 4 (DPP4; CD26) receptor die onder meer op humane cellen voorkomt (voornamelijk op epitheelcellen van de lagere luchtwegen, maar ook op nierepitheelcellen, darmcellen, T-cellen en macrofagen). S2 is betrokken bij de fusie van het virale membraan met het membraan van de gastheer cel.<sup>7</sup> Aan de 5'- en 3'-uiteinden van het genoom van MERS-CoV bevinden zich niet-coderende sequenties, de zogenaamde 'non-translated regions' of NTR's die noodzakelijk zijn voor replicatie.

### **3. MERS-ChAdOx1**

De ChAdOx1 vector is afgeleid van een adenovirus. Adenovirussen behoren tot de familie van de *Adenoviridae* en komen voor bij gewervelde dieren, zoals zoogdieren, reptielen, amfibieën, vissen en vogels. ChAdOx1 is afgeleid van een chimpansee-adenovirus en betreft een eerste generatie replicatie-deficiënte adenovirale vector die ook is gebruikt voor het wereldwijd toegepaste SARS-CoV-2 vaccin (Vaxzevria van AstraZeneca). In deze vector is de E1-regio gedeleteerd, en is daarnaast ook het E3-locus gedeleteerd. ChAdOx1 kan alleen vermeerderen in cellijnen die het E1-eiwit tot expressie brengen, zoals de Per.C6 cellijn. Het transgen (S-gen) in MERS-ChAdOx1 is afkomstig van MERS-CoV en is geïnsereerd op de positie van het E1-gen. Het betreft een synthetisch S-gen van de MERS-CoV stam Camel/Quatar/2/2014 met geoptimaliseerd codongebruik voor humane toepassing. Het MERS-CoV S-gen staat onder controle van een 'long CMV' (LCMV) promotor, en bevat een 'bovine growth hormone' (bGH) polyadenyleringssignaal.

### **4. Voorgenomen werkzaamheden**

De aanvrager is voornemens resusapen en/of Java-apen (*M. mulatta* en *M. fascicularis*) te vaccineren met verschillende doses van het MERS-ChAdOx1 vaccin. Op verschillende tijdstippen zal bloed afgenomen worden, en bij een voldoende sterke vaccin-immuunrespons zullen de gevaccineerde apen 4 tot 8 weken later 'gechallenged' worden met wildtype MERS-CoV. Blootstelling aan wildtype MERS-CoV zal plaatsvinden via de trachea (met een katheter in luchtpijp), neus (waarbij virussuspensie met een pipet in de neusgaten worden gedruppeld), oraal (met een katheter in de slokdarm) en het oog (wederom druppelen met een pipet). Er kunnen meerdere toedieningsroutes per dier toegepast worden. Naast bloedmonsters zullen ook neus- en keelwabs worden afgenomen en zullen longspoelingen en een PET-CT plaatsvinden. De PET-CT bevindt zich eveneens in de DM-III ruimte. Na afloop van de studie zullen de apen worden geëuthanaseerd.

De aanvrager verzoekt de *in vivo* experimenten uit te voeren op DM-III. De voorgestelde voorschriften die hierbij gehanteerd worden voor de vaccinatie van apen betreffen:

- Tijdens de werkzaamheden wordt een mond- en neuskapje, P2 of hogere specificatie, en een veiligheidsbril gedragen;
- Tijdens de werkzaamheden wordt apart schoeisel gedragen. Het schoeisel wordt na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten.

Tijdens en na de challenge met wildtype MERS worden tevens de volgende voorschriften gehanteerd:

- Tijdens de werkzaamheden worden handschoenen tot over de mouw van de werkkleding gedragen;
- Tijdens de werkzaamheden wordt een volgelaatsmasker met hepafilter gedragen;
- Volledig beschermende kleding en apart schoeisel wordt gedragen. Deze kleding en schoeisel worden na afloop van de werkzaamheden in de besmette zijde van de sluis achtergelaten.

Er zal tevens een douche aanwezig zijn in de DM-III ruimte.

#### **4. Eerdere COGEM adviezen**

De COGEM heeft MERS-CoV in pathogeniteitsklasse 3 ingedeeld.<sup>12</sup> Met betrekking tot adenovirale vectoren heeft de COGEM in 2021 een generieke milieurisicobeoordeling uitgebracht over het gebruik van replicatie-deficiënte adenovirale (AdV) vectoren in klinische studies.<sup>13</sup>

In april 2020 heeft de COGEM geadviseerd over een vergelijkbare aanvraag van het BPRC betreffende de inschaling van laboratoriumwerkzaamheden en vaccinatieproeven in apen met het gg-virus YF-17D-nCoV-S, een op YFV-17D gebaseerd vaccin met het S-gen van SARS-CoV-2. De COGEM stemde in met de door de aanvrager voorgestelde inschaling van de werkzaamheden op ML-III en DM-III niveau met de voorgestelde aanvullende maatregelen.<sup>14</sup>

#### **5. Overwegingen**

De COGEM is door Bureau GGO gevraagd of er bij de voorgenomen experimenten gg-MERS-CoV gevormd kan worden door recombinatie tussen het S-gen van het MERS-ChAdOx1 vaccin en het wildtype MERS-CoV waarmee gechallengeed wordt. Indien dit niet uit te sluiten valt, is Bureau GGO van mening dat hierdoor een gg-virus ontstaat waardoor bijbehorende aanvullende maatregelen noodzakelijk zijn ten opzichte van de vaccinatie-experimenten. De COGEM zal in onderstaande paragrafen ingaan op verschillende aspecten van de milieurisicobeoordeling, en met name de mogelijkheid op recombinatie.

##### **5.1 Karakteristieken van MERS-ChAdOx1**

ChAdOx1 is een replicatie-deficiënte AdV-vector die vaker gebruikt is bij de ontwikkeling van nieuwe vaccins.<sup>15</sup> Deze vector is tevens wereldwijd toegepast bij de vaccinatie tegen het SARS-CoV-2 virus (Vaxzevria). De aanvrager is voornemens een ChAdOx1-vaccin tegen MERS (MERS-ChAdOx1) te

testen in apen. Vanwege het ontbreken van een virale envelop zal het membraangebonden S-eiwit niet in het adenovirale virusdeeltje geïncorporeerd worden.

### **5.2 Recombinatie tussen MERS-ChAdOx1 en wildtype adenovirussen**

De aanvrager stelt dat niet uitgesloten kan worden dat er in de proefdieren (makaken) adenovirussen bevinden, waardoor er een minieme kans is op recombinatie tussen de wildtype adenovirussen en de virale vector MERS-ChAdOx1, en dus op formatie van replicatiecompetent adenovirus (RCA). De milieurisico's van recombinatie acht de COGEM echter verwaarloosbaar klein, aangezien eventueel ontstane AdV-recombinanten geen hogere pathogeniteit of fitness zullen hebben dan het wildtype adenovirus waarmee het proefdier geïnfecteerd is geraakt.<sup>13</sup> Het risico van eventuele complementatie van de AdV-vector acht zij eveneens verwaarloosbaar klein. Complementatie van de vector kan leiden tot mobilisatie en verhoogde uitscheiding, maar hierbij zal vanwege het replicatie-deficiënte karakter van de vector geen verdere verspreiding optreden.

### **5.3 Recombinatie tussen MERS-ChAdOx1 en wildtype MERS-CoV**

Het MERS-ChAdOx1 vaccin zal getest worden in resusapen en/of Java-apen. Deze apen zijn voorafgaand aan het onderzoek uitgebreid virologisch onderzocht op de afwezigheid van MERS-CoV en nauwverwante virussen. Na vaccinatie wordt de immunrespons van de apen gemonitord. Vier tot acht weken na de vaccinatie zullen de apen geïnfecteerd worden met een wildtype MERS-CoV. Infectie met het wildtype coronavirus zal gebeuren via de neus, slokdarm, luchtpijp of het oog, of een combinatie hiervan. De aanvrager stelt dat het replicatie-deficiënte MERS-ChAdOx1 vaccin binnen vier weken uit het lichaam verdwenen zal zijn vanwege het niet-replicerende karakter. Hiervoor worden geen specifieke gegevens aangeleverd. De aanvrager acht de kans op recombinatie tussen MERS-ChAdOx1 en wildtype MERS-CoV uitermate klein of zelfs afwezig, maar gaat alsnog in op het theoretische scenario dat er wel recombinatie optreedt, en stelt dat hierbij een MERS-CoV virus zal ontstaan met dezelfde eigenschappen als het gebruikte 'challenge' virus.

De COGEM acht de kans dat er na minstens vier weken nog replicatie-deficiënt MERS-ChAdOx1 in de proefdieren aanwezig is klein, maar niet geheel uitgesloten. De kans dat er in het proefdier recombinatie optreedt tussen MERS-ChAdOx1, een (replicatie-deficiënte) DNA vector, en wildtype MERS-CoV, een RNA-virus, tijdens de 'challenge' acht de COGEM echter verwaarloosbaar klein. Het betreffen hier verschillende virussen waarbij, buiten het S-gen dat tevens codongeoptimaliseerd is in MERS-ChAdOx1, geen homologie is tussen de adenovirale vector en MERS-CoV. Aangezien de adenovirale MERS-ChAdOx1 vector een dubbelstrengs DNA-genoom bevat en het wildtype MERS-CoV een RNA-virus betreft, kan er geen directe DNA-DNA recombinatie plaatsvinden, maar zou het derhalve RNA-RNA recombinatie betreffen na transcriptie van het S-gen in MERS-ChAdOx1. Hiervoor dient een cel gelijktijdig geïnfecteerd te zijn met zowel MERS-ChAdOx1 en wildtype MERS, en dient vier weken na de oorspronkelijke vaccinatie nog genexpressie van MERS-ChAdOx1 plaats te vinden. Daarnaast vormen coronavirussen replicase-transcriptase complexen (RTCs) waar de RNA-synthese (replicatie en transcriptie) plaatsvindt.<sup>16,17</sup> Het is onwaarschijnlijk dat het mRNA van de adenovirale vector in deze

replicatiesites terecht komt. Vanwege de opeenstapeling van zeer kleine kansen en onwaarschijnlijke scenario's, acht de COGEM de kans op het ontstaan van gg-MERS-CoV verwaarloosbaar klein.

In het theoretische scenario dat er recombinatie op zou treden, zijn er echter geen redenen om aan te nemen dat de recombinatie resulteert in een gg-MERS-CoV dat een verhoogde virulentie of verspreidingsvermogen heeft ten opzichte van het wildtype virus. Homologe recombinatie binnen het S-gen resulteert namelijk in een MERS-CoV virus met eenzelfde S-gen dat enkel codon geoptimaliseerd is voor humane toepassing. Hierbij treedt geen verandering in de aminozuurvolgorde van het eiwit op, waardoor het verspreidingsvermogen niet is aangepast. Hoewel verwacht wordt dat het gg-MERS-CoV een lagere fitness zal hebben door de codonoptimalisatie van het S-gen waarbij, kan er zonder experimentele gegevens geen uitspraak over gedaan worden. Echter, de aanvullende maatregelen die de aanvrager hanteert wanneer de 'challenge' met MERS-CoV-2 wordt uitgevoerd (waaronder het dragen van een volgelaatsmasker met hepafilter) zijn zodanig dat ook een eventueel ontstaan recombinant virus zich niet uit de ingeperkte ruimte kan verspreiden.

## 6. Conclusie en advies

Alle bovenstaande overwegingen in ogenschouw nemende, acht de COGEM de kans op het ontstaan van gg-MERS-CoV bij de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein, en kan zij derhalve instemmen met de voorgestelde inschaling op DM-III voor vaccinatie- en 'challenge' experimenten met apen. De COGEM acht geen extra aanvullende maatregelen noodzakelijk, anders dan de aanvullende maatregelen die de uitvoerder voornemens is toe te passen. De COGEM merkt hierbij op dat de maatregelen die gehanteerd zullen worden tijdens en na de 'challenge' met wildtype MERS-CoV ook afdoende zijn in het theoretische geval dat er gg-MERS-CoV zou ontstaan.

Op de genoemde inperkingsniveaus en met de door de aanvrager voorgestelde beschermingsmaatregelen, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein.

## Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Virus Taxonomy: 2021 Release <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezoekt: 25 augustus 2023)
2. Zaki AM *et al.* (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl. J. Med.* 367:1814-1820
3. De Wit E *et al.* (2016). SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 14: 523-534
4. Petrosillo N *et al.* (2020). COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clin. Microbiol. Infect.* 26: 729-734
5. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [https://www.who.int/westernpacific/news/q-a-detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/westernpacific/news/q-a-detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))

6. World Health Organization. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)  
[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))
7. Al-Omari A *et al.* (2019). MERS coronavirus outbreak: Implications for emerging viral infections. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 93: 265-285
8. Memish ZA *et al.* (2013). Family Cluster of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infections. *N. Engl. J. Med.* 368: 2487-2494
9. Health Protection Agency (HPA) UK Novel Coronavirus Investigation team. 2013. Evidence of person-to-person transmission within a family cluster of novel coronavirus infections, United Kingdom, February 2013. *Euro Surveill.* 18: 20427
10. Yin Y & Wunderink RG (2018). MERS, SARS, and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology* 23: 130-137
11. Landelijke Coördinatie Infectieziektebestrijding (LCI). Richtlijnen & Draaiboeken: MERS-CoV.  
<https://lci.rivm.nl/richtlijnen/merscov> (bezocht: 25 augustus 2023)
12. COGEM (2013). Inschaling van werkzaamheden met gg- *Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus*. COGEM advies CGM/130822-01
13. COGEM (2021). Generieke milieuriscobeoordeling van replicatie-deficiënte adenovirale vectoren in klinische studies. COGEM advies CGM/210324-02
14. COGEM (2020). Inschaling van *in vitro* en *in vivo* werkzaamheden met gg-Yellow fever virus vaccinstam 17D met het gen dat codeert voor het S-eiwit van SARS-CoV-2. COGEM advies CGM/200407-03
15. Folegatti PM *et al.* (2022). Vaccines based on the replication-deficient simian adenoviral vector ChAdOx1: Standardized template with key considerations for a risk/benefit assessment. *Vaccine* 40: 5248-5262
16. Snijder EJ *et al.* (2020). A unifying structural and functional model of the coronavirus replication organelle: Tracking down RNA synthesis. *PLoS Biol.* 18: e3000715
17. Wang Y *et al.* (2020). Coronaviruses: an updated overview of their replication and pathogenesis. *Methods Mol. Biol.* 2203: 1-29