

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer Ch.A. Jansen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 25 februari 2025
KENMERK CGM/250225-01
ONDERWERP Advies verzoek wijziging werkvoorschrift voor werkzaamheden met *gg-Plasmodium*

Geachte heer Jansen,

Naar aanleiding van een adviesvraag over het dossier IG 18-026_2.8-003 getiteld 'Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerde malaria parasieten', ingediend door de Stichting Biomedical Primate Research Centre, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

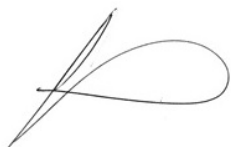
De COGEM is gevraagd te adviseren over de wijziging van een werkvoorschrift voor werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-)malariaparasieten in apen op inperkingsniveau DM-II. De wijziging van het werkvoorschrift betreft de inactivatie van beddingmateriaal uit de kooien van de apen voordat het de instelling verlaat. De aanvrager verzoekt om hiervan af te wijken, gezien er geen levende malariaparasieten aanwezig zijn in het beddingmateriaal.

Malariaparasieten kunnen mensen of dieren uitsluitend infecteren via de beet van een met malaria besmette mug. Malariaparasieten leven binnen de cellen van hun gastheer en zijn afhankelijk van de gastheer voor voedingsstoffen. Hierdoor kunnen de parasieten niet buiten de gastheer overleven. Het beddingmateriaal met urine of feces van de met gg-malaria geïnfecteerde apen zal daardoor geen levende parasieten bevatten. Vanwege de omstandigheden op de bedding zullen gg-malariaparasieten in bloeddruuppels, die hier tijdens bloedafname op terechtkomen, niet lang overleven. Het beddingmateriaal wordt niet vervangen op dagen van bloedafname, waardoor medewerkers niet met mogelijk nog levend materiaal in aanraking komen.

Alles in overweging nemende kan de COGEM instemmen met de ontheffing van het voorschrift om beddingmateriaal te inactiveren voordat het buiten de instelling wordt afgevoerd voor de beschreven werkzaamheden met gg-malariaparasieten in apen.

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

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized 'S' followed by a loop and a horizontal stroke.

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

Advies verzoek wijziging werkvoorschrift voor werkzaamheden met gg-*Plasmodium*

COGEM advies CGM/250225-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een wijziging van reeds vergunde werkzaamheden met genetisch gemodificeerde (gg-) *Plasmodium* in apen (IG 18-026_2.8-003). De aanvraag is afkomstig van de Stichting Biomedical Primate Research Centre. De vergunde werkzaamheden betreffen de infectie van resusapen en cynomolgusapen met gg-*Plasmodium cynomolgi* en gg-*Plasmodium knowlesi*. De dieren zullen tijdens deze werkzaamheden worden gehuisvest op DM-II. De huidige aanvraag betreft een ontheffingsverzoek van het werkvoorschrift 9.1.6.2.2.w van Bijlage 9 van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen (Regeling ggo),¹ waarin wordt beschreven dat afval geïnactiveerd moet worden voor dit buiten de instelling wordt afgevoerd. De aanvrager verzoekt om af te mogen afwijken van dit werkvoorschrift en het beddingmateriaal uit de kooien van de apen niet te inactiveren alvorens dit af te voeren, aangezien er volgens de aanvrager geen levende parasieten meer in het beddingmateriaal aanwezig zijn. De COGEM is gevraagd of zij kan instemmen met dit verzoek.

2. Achtergrondinformatie

2.1 Parasieten

Parasieten zijn organismen die zich voeden ten koste van een ander organisme voor het volbrengen van hun levenscyclus én zich daarbij tijdelijk of permanent in of op hun gastheer vestigen. Er kunnen verschillende categorieën parasieten onderscheiden worden; ééncellige parasieten (protozoën) en meercellige parasieten zoals bepaalde wormen (o.a. platwormen en rondwormen) en geleedpotigen (o.a. mijten en teken). Naast morfologische kenmerken, worden parasieten ook onderscheiden op basis van hun interactie met de gastheer; endoparasieten leven binnenin de gastheer, terwijl ectoparasieten bevinden zich op of in de huid bevinden.^{2,3}

Sommige parasieten doorlopen een aantal ontwikkelingsstadia voordat zij volwassen worden. Deze ontwikkelingsstadia kunnen morfologisch heel verschillend zijn. Er bestaan parasieten die maar één gastheersoort parasiteren (directe levenscyclus), en parasieten die gebruik maken van één of meerdere tussengastheren (indirecte levenscyclus). Bij een aantal parasietensoorten kan in de tussengastheer ongeslachtelijke vermenigvuldiging plaatsvinden. In de eindgastheer ontwikkelt de parasiet zich tot het volwassen stadium en vindt al dan niet geslachtelijke vermenigvuldiging plaats. Parasieten kunnen worden overgedragen door direct contact, via de fecaal-orale route, via de voedselketen, of door vectoren.^{2,3}

2.2 *Plasmodium* spp.

Plasmodium spp., de ziekteverwekkers van malaria, zijn ééncellige intracellulaire parasieten en behoren tot het fyllum van Apicomplexa.³ Voor het voltooien van de levenscyclus van *Plasmodium* spp. is een

tussengastheer noodzakelijk. Als tussengastheer kunnen verschillende diersoorten optreden, zoals zoogdieren (waaronder de mens), vogels en reptielen.⁴ De parasiet is alleen pathogeen voor zijn tussengastheer. De eindgastheer en transmissievector van *Plasmodium* zijn muggen (*Anopheles* spp., *Aedes* spp. en *Culex* spp.), waarbij elke *Plasmodium*-soort overgedragen wordt door een specifieke steekmuggensoort.³ *Plasmodium*-soorten die pathogeen zijn voor de mens en aapachtigen worden overgedragen door *Anopheles* muggensoorten.^{3,5,6,7}

Er zijn meer dan 200 *Plasmodium*-soorten beschreven, waarvan er vijf pathogeen zijn voor de mens: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* en *P. knowlesi*.^{3,4} *P. falciparum* en *P. vivax* zijn de belangrijkste humane malariaverwekkers, waarbij *P. falciparum* het meest ernstige ziektebeeld (malaria tropica) veroorzaakt.^{3,4} De vijf soorten zijn tevens in staat verschillende apensoorten te infecteren, waarbij voor *P. knowlesi* de aap een belangrijkere tussengastheer is dan de mens.^{3,8} Ook voor *P. coatney*, *P. cynomolgi* en *P. simium* – pathogenen van verschillende apensoorten – is beschreven dat ze in zeer zeldzame gevallen ziekte bij de mens kunnen veroorzaken.⁴

De levenscyclus van *Plasmodium* is complex. De parasiet doorloopt een groot aantal stadia, deels in de mug, deels in de vertebrate tussengastheer. Bij een beet van een met *Plasmodium* geïnfecteerde mug worden de parasieten in de vorm van sporozoïeten in de bloedbaan van de tussengastheer geïnjecteerd. Deze sporozoïeten verplaatsen zich via de bloedbaan naar de lever, waar zij zich in hepatocyten (specifieke levercellen) verder ontwikkelen tot merozoïet, en zich asexueel vermenigvuldigen (het leverstadium). Na verloop van tijd lyseren de hepatocyten en komen de merozoïeten vrij in de bloedbaan. Zij infecteren vervolgens de erythrocyten (de rode bloedcellen) waarin verdere asexuele vermenigvuldiging plaatsvindt (het bloedstadium). Een klein deel van de parasieten (1%) ontwikkelt zich hier tot vrouwelijke of mannelijke gametocyten (geslachtscellen).⁹ Na een aantal dagen lyseren de merozoïet-geïnfecteerde erythrocyten en komen deze vrij in de bloedbaan waarna zij opnieuw erythrocyten infecteren. In deze fase van de infectie treden de kenmerkende symptomen van malaria op. Wanneer een ontvankelijke mug een bloedmaal neemt van een met *Plasmodium*-besmette tussengastheer, zullen de merozoïeten en gametocyten opgenomen worden en ontwikkelen gametocyten zich tot gameten. In het maagdarmkanaal van de mug vindt kruisbevruchting plaats en versmelten de gameten tot zygoten. Deze zygoten ontwikkelen zich tot sporozoïet en vermenigvuldigen zich. Vervolgens verspreiden de sporozoïeten zich naar de speekselklieren van de mug waarna de levenscyclus van de parasiet zich kan herhalen.^{3,5}

2.3 Malaria

Malaria, veroorzaakt door *Plasmodium*-parasieten, gaat bij de mens aanvankelijk gepaard met griepachtige verschijnselen zoals (hoge) koorts, hoofdpijn, spierpijn en misselijkheid. Afhankelijk van welke *Plasmodium*-soort de infectie veroorzaakt, kan malaria uiteindelijk leiden tot lever-, nier- en hersenbeschadiging met, indien niet tijdig behandeld, een dodelijke afloop ('malaria tropica').^{3,5} Malaria komt voor in de tropische, subtropische en gematigde klimaatgebieden.^{5,6} Gemiddeld worden jaarlijks meer dan 229 miljoen ziektegevallen gerapporteerd.¹⁰ Mits tijdig gediagnosticeerd is malaria goed te behandelen, hoewel in endemische gebieden resistentie voorkomt tegen de gangbare medicatie.^{5,10}

Voor malaria geldt in Nederland een meldingsplicht, met 255 gemelde gevallen in 2023.^{11,12} Tot 1961 was malaria inheems in Nederland. Door intensieve surveillance en bestrijding is Nederland sinds 1970 door de WHO officieel malariavrij verklaard.¹³ Huidige malariameldingen zijn meestal importgevallen van reizigers uit malariarisicogebieden. In de buurt van luchthavens komen incidenteel gevallen van malaria voor door onbedoelde import van geïnfecteerde muggen, voornamelijk gedurende de warme zomermaanden.^{13,14,15,16}

3. Voorgenomen werkzaamheden

De huidige aanvraag betreft een verzoek tot wijziging van een werkvoorschrift van reeds vergunde werkzaamheden met gg-*P. knowlesi* en gg-*P. cynomolgi* in resusapen en cynomolgusapen. Tijdens de werkzaamheden worden apen geïnfecteerd met de gg-*Plasmodium* door directe toediening van de parasieten of via een bloedmaaltijd met geïnfecteerde muggen. De werkzaamheden omvatten verder de afname van bloedcellen en de isolatie van levercellen uit de geïnfecteerde apen. Tijdens de experimenten worden de apen per twee dieren in een kooi gehuisvest in een DM-II ruimte, onder navolging van het aanvullende voorschrift:

- Het gebruik van 'sharp's' moet tot een minimum worden beperkt en is alleen toegestaan onder condities waarbij prik- en snijaccidenten worden voorkomen (bijvoorbeeld in combinatie met kevlarhandschoenen).

De aanvrager verzoekt om voor de beschreven werkzaamheden af te wijken van werkvoorschrift 9.1.6.2.2.w van de regeling ggo:

- Al het biologisch afval wordt verzameld in breukvaste, lekdichte containers die gesloten kunnen worden of in een gelijkwaardige verpakking. Het afval wordt geïnactiveerd voordat het de instelling verlaat of wordt ter onmiddellijke verbranding aangeboden aan een afvalverbrandingsinstallatie

Het wijzigingsverzoek betreft de inactivatie van beddingmateriaal uit de kooien van de met gg-*Plasmodium* geïnfecteerde apen, voordat het afval wordt afgevoerd. De aanvrager geeft aan dat er geen levende parasieten aanwezig zijn in het beddingmateriaal en verzoekt daarom het beddingmateriaal af te voeren volgens de onderstaande procedure, zonder dit eerst te inactiveren.

3.1 Procedure afvoeren beddingmateriaal

Het beddingmateriaal wordt per DM-II ruimte verzameld, waardoor er geen vermenging plaatsvindt van afval uit andere DM-II ruimtes. In de DM-II ruimte worden tevens geen apen gehuisvest in associatie met andere ggo's dan de gg-*Plasmodium*. Tijdens het vervangen van het beddingmateriaal draagt de dierversorger werkkleding en handschoenen, en wordt het beddingmateriaal met een schep in een plastic zak gedaan. De plastic zak met het beddingmateriaal wordt vervolgens dichtgebonden afgevoerd naar een container naast het gebouw. De inhoud van container wordt daarna, samen met ander afval uit deze container, in een perscontainer verzameld en eenmaal per week opgehaald voor verbranding. De aanvrager geeft aan dat het beddingmateriaal een keer per week, of vaker indien

nodig, wordt vervangen. Het vervangen van beddingmateriaal gebeurt niet op de dag van experimentele handelingen.

4. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft *P. knowlesi* en *P. cynomolgi* ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2.¹⁷ De COGEM heeft niet eerder geadviseerd over werkzaamheden met gg-*P. knowlesi* en *P. cynomolgi*.

5. Overweging

De COGEM is gevraagd of zij kan instemmen met de wijziging van het werkvoorschrift waarin wordt beschreven dat afval moet worden geïnactiveerd voor dit buiten de instelling wordt afgevoerd voor werkzaamheden met gg-*Plasmodium* geïnfecteerde apen op DM-II. De aanvrager verzoekt om af te wijken van dit voorschrift en het beddingmateriaal in de kooien van de apen af te voeren volgens de in de aanvraag beschreven procedure, zonder het materiaal eerst te inactiveren (zie ook §3.1). De aanvrager geeft aan dat inactivatie niet noodzakelijk is, aangezien er geen levende parasieten in het beddingmateriaal aanwezig zullen zijn en heeft hiervoor een onderbouwing aangeleverd ondersteund met literatuur.

Het beddingmateriaal uit de kooien in de DM-II ruimte zal urine en feces bevatten afkomstig van de met gg-*Plasmodium* geïnfecteerde apen. Tijdens de werkzaamheden zullen ook bloedmonsters worden afgenomen bij de apen. Wanneer hierbij druppels bloed vrijkomen van de geïnfecteerde apen, kan dit op het beddingmateriaal terechtkomen. Het beddingmateriaal dat bij de werkzaamheden wordt vervangen, is volgens de aanvrager niet scherp en kan daardoor niet voor prikaccidenten zorgen. Mensen of dieren worden met *Plasmodium*-parasieten geïnfecteerd door muggenbitten van met *Plasmodium*-geïnfecteerde muggen.¹⁸ Gevallen van besmetting via andere routes, zoals via urine of feces, zijn niet bekend. In zeldzame gevallen kunnen infecties met *Plasmodium*-parasieten overgedragen worden door orgaantransplantaties, bloedtransfusies, het gebruik van besmette naalden of perinataal van moeder op kind.

De *Plasmodium*-parasieten leven intracellulair in bloed- of levercellen van de gastheer en zijn afhankelijk van de gastheer cel en de extracellulaire omgeving voor voedingsstoffen. De parasieten zijn niet in staat om zelf bepaalde voedingsstoffen te synthetiseren, zoals aminozuren en ijzerionen.^{19,20} Hierdoor kan de parasiet niet buiten de gastheer overleven. Door de afhankelijkheid van voedingsstoffen van de gastheer en de complexe levenscyclus van *Plasmodium*-parasieten zijn *Plasmodium* spp. lastig *in vitro* te kweken in het bloedstadium.^{21,22,23} Onder specifieke kweekomstandigheden, met rijk medium en een verlaagde zuurstofspanning, kunnen sommige *Plasmodium*-parasieten in het bloedstadium *in vitro* worden gekweekt.

Vanwege de afhankelijkheid van hun gastheer cel kunnen de parasieten niet in urine of feces overleven en verder verspreiden. Vanwege de afwezigheid van het juiste milieu buiten de gastheer zullen *Plasmodium*-parasieten in bloeddruppels, die hier tijdens bloedafname mogelijk op terechtkomen, ook niet lang overleven. Daarnaast wordt het beddingmateriaal niet vervangen op dagen waarop experimentele handelingen plaatsvinden, zoals op dagen van bloedafname, waardoor medewerkers

niet met mogelijk nog levend materiaal in aanraking komen. De COGEM is van oordeel dat de kans verwaarloosbaar klein is dat er levende *Plasmodium*-parasieten aanwezig zijn in het af te voeren beddingmateriaal.

Alles in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat de kans verwaarloosbaar klein is dat via het beddingmateriaal, afgevoerd zoals beschreven in de aanvraag, verdere verspreiding van de gg-*Plasmodium*-parasieten plaats kan vinden.

6. Advies

Op basis van de door de aanvrager aangeleverde onderbouwing, stemt de COGEM in met het verzoek om af te wijken van werkvoorschrift 9.1.6.2.2.w van de regeling ggo en om het beddingmateriaal volgens de in de aanvraag beschreven procedure af te voeren, zonder dit eerst te inactiveren. De COGEM is van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij het uitvoeren van de voorgenomen werkzaamheden met gg-malariaparasieten in apen verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. Ministerie van Infrastructuur en Milieu (2015). Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013. <https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072> (bezoekt: 13 februari 2025)
2. Nederlandse Vereniging voor Parasitologie. <https://www.parasitologie.nl/home> (bezoekt: 24 februari 2025)
3. The encyclopaedia of parasitology (2008). 3rd Edition. Ed. Mehlhorn H, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, New York
4. Perkins SL & Austin CC (2008). Four new species of *Plasmodium* from new guinea lizards: integrating morphology and molecules. J. Parasitol. 95: 424-433
5. Fairhurst RM & Wellem TE (2010). *Plasmodium* species (malaria). In: Principles and Practice of Infectious diseases. 7th edition. Eds. Mandell GL et al. Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia
6. Hay SI et al. (2010). Developing global maps of the dominant *Anopheles* vectors of human malaria. PLOS Med. 7: e1000209
7. Centers of Disease Control. Life Cycle of *Anopheles* mosquitoes. <https://www.cdc.gov/mosquitoes/about/life-cycle-of-anopheles-mosquitoes.html> (bezoekt: 13 februari 2025)
8. World Health Organization. Malaria factsheet. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria> (bezoekt: 13 februari 2025)
9. Nilsson SK et al. (2015). Targeting human transmission biology for malaria elimination. PLoS Pathog. 11: e1004871
10. World Health Organization. World Malaria Report 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240015791> (bezoekt: 13 februari 2025)
11. RIVM. Meldingsplicht infectieziekten. www.rivm.nl/Onderwerpen/M/Meldingsplicht_infectieziekten/Welke_infectieziekten_zijn_meldingsplichtig (bezoekt: 13 februari 2025)
12. RIVM. Staat van infectieziekten in Nederland, 2023. <https://www.rivm.nl/publicaties/staat-van-infectieziekten-in-nederland-2023> (bezoekt: 13 februari 2025)
13. Berger S (2015). Malaria: Global status. In: Gideon Informatics. Los Angeles, California. 284-286
14. Ponnudurai T et al. (1981). Chloroquine sensitivity of isolates of *Plasmodium falciparum* adapted to in vitro culture. Trop. Geogr. Med. 33: 50-54
15. Delemarre BJ & van der Kaay HJ (1979). Tropical malaria contracted the natural way in the Netherlands. Ned. Tijdschr. Geneesk. 123: 1981-1982
16. Takken W et al. (1999). Terugkeer van endemische malaria in Nederland uiterst onwaarschijnlijk. Ned. Tijdschr. Geneesk. 143: 836- 838
17. COGEM (2024). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijst van parasieten. COGEM advies CGM/241127-03
18. Centers of Disease Control. How Malaria Spreads. <https://www.cdc.gov/malaria/causes/index.html> (bezoekt: 13 februari 2025)
19. Gardner MJ et al. (2002). Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. Nature 419: 498-511

20. Tougan T *et al.* (2020). The malaria parasite *Plasmodium falciparum* in red blood cells selectively takes up serum proteins that affect host pathogenicity. *Malar. J.* 19:1-13.
21. Thomson-Luque R *et al.* (2019). From marginal to essential: the golden thread between nutrient sensing, medium composition and *Plasmodium vivax* maturation in in vitro culture. *Malar. J.* 18: 1-23
22. Jensen JB (2002). In vitro culture of *Plasmodium* parasites. *Methods Mol. Med.* 72: 477-488
23. Kocken CH *et al.* (2002). *Plasmodium knowlesi* provides a rapid in vitro and in vivo transfection system that enables double-crossover gene knockout studies. *Infect. Immun.* 70: 655-660