

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

DATUM 11 november 2020
KENMERK CGM/201111-01
ONDERWERP Advies inschaling productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S kandidaatvaccin tegen COVID-19

Geachte mevrouw Van Nieuwenhuizen,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IG 20-214_III-000 getiteld 'Formulation, filling and storage of gg-MeV-CoV2-S vaccine against COVID-19' ingediend door van Intervet International B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over de inschaling van werkzaamheden (ontdooien, formuleren en het uitvullen in ampullen) met een genetisch gemodificeerd (gg-) *Measles morbillivirus* (MeV), waarin het gen dat codeert voor het Spike (S-) eiwit van SARS-CoV-2 is geïnsereerd. De aanvrager verzoekt de productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S op MI-III, en kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus op ML-II inperkingsniveau uit te mogen voeren, met inachtneming van aanvullende voorschriften.

Wildtype MeV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. Het gg-MeV vaccinvirus waarmee de aanvrager wil gaan werken is gebaseerd op de levende, sterk verzwakte, MeV vaccinstam Schwarz. Deze stam wordt wereldwijd al vele decennia toegepast als veilig en effectief vaccin tegen mazelen.

De COGEM concludeert dat gg-MeV-CoV2-S minstens even geattenuëerd is als uitgangsstam Schwarz. Echter, vanwege het ontbreken van experimentele gegevens is de COGEM niet in staat in te schatten in hoeverre het gg-MeV-CoV2-S nog verder geattenuëerd is. Daarnaast kan op basis van de aangeleverde data geen uitspraak gedaan worden over de mogelijke verandering van het tropisme van deze vaccinkandidaat. De COGEM is van oordeel dat bij de voorgenumen werkzaamheden de kans op verspreiding van gg-MeV-CoV2-S naar de productieruimte klein, maar niet geheel uitgesloten is. De kans op verdere verspreiding van het gg-virus naar het milieu acht zij verwaarloosbaar klein.

Alles in overweging nemende, adviseert de COGEM de productiewerkzaamheden met het gg-MeV-CoV2-S vaccin met inbegrip van de voorgestelde aanvullende maatregelen op MI-III, en de kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus met inachtneming van aanvullende voorschriften op ML-II inperkingsniveau, in te schalen.

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 gg-MeV-CoV2-S kandidaatvaccin tegen COVID-19

COGEM advies CGM/201111-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van Intervet International B.V. (IG 20-214) voor de inschaling van grootschalige productiewerkzaamheden van een genetisch gemodificeerd (gg-) *Measles morbillivirus* (MeV), waarin het gen dat codeert voor het Spike (S-) eiwit van SARS-CoV-2 is geïnsereerd. Het betreft een vaccinkandidaat tegen COVID-19, die elders geproduceerd zal worden. De werkzaamheden omvatten het ontgooien, de formulering en het uitvullen in ampullen van gg-MeV-CoV2-S in een zogenaamde ‘cleanroom’ productie- en vulruimte; dit proces is identiek aan een recent door de COGEM beoordeelde aanvraag inzake de productiewerkzaamheden met een gg-Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV).¹ De aanvrager verzoekt de productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S op MI-III en kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus (kwaliteitscontroles) op ML-II inperkingsniveau uit te mogen voeren, met inachtneming van aanvullende voorschriften.

1.1 *Measles morbillivirus*

Measles morbillivirus (MeV) behoort tot het genus *Morbillivirus* binnen de familie *Paramyxoviridae*.² MeV is een zeer besmettelijk virus, dat aerogeen wordt overgedragen. Overdracht kan ook plaatsvinden door direct nauw contact of indirect via besmette oppervlakten.^{5,4} MeV is de veroorzaker van de ziekte mazelen die enkel bij de mens voorkomt. De klinische symptomen ontstaan ongeveer twee weken na infectie en bestaan uit koorts, hoesten, neusverkoudheid en bindvliesontsteking van het oog (conjunctivitis) gevolgd door karakteristieke uitslag.^{3,5} Een MeV infectie zorgt ervoor dat het immuunsysteem tijdelijk wordt verzwakt, waardoor een geïnfecteerd persoon vatbaarder is voor opportunistische infecties.³ Het merendeel van de patiënten herstelt van de ziekte. In gecompliceerde gevallen kan er onder meer blindheid, encefalitis (hersenenontsteking), ernstige diarree en daarmee gepaard gaande dehydratie, oorontsteking of ernstige luchtweginfectie (bijv. pneumonie) optreden.^{3,5,4}

Risicogroepen met een grotere kans op een ernstig verloop van de ziekte zijn ondervoede kinderen met een vitamine A gebrek, immuungecompromiteerde personen en zwangere vrouwen. Een MeV infectie tijdens de zwangerschap kan leiden tot spontane abortus of vroeggeboorte.^{3,4,5} MeV is, ondanks de beschikbaarheid van een veilig en kosteneffectief vaccin, jaarlijks verantwoordelijk voor aanzienlijke sterfte. Meer dan 95% van de sterfgevallen vindt plaats in lage-inkomenslanden met een slecht ontwikkelde gezondheidszorg.⁵ In 2018 waren er wereldwijd meer dan 140.000 sterfgevallen; het merendeel hiervan betrof kinderen jonger dan vijf jaar oud.⁵ In Nederland is vaccinatie tegen mazelen opgenomen in het Rijksvaccinatieprogramma.⁶

1.1.1 Genomische organisatie MeV

MeV is een niet-gesegmenteerd negatief enkelstrengs RNA-virus genoom dat omhuld wordt door een membraan.^{3,7} Het genoom codeert voor de structurele eiwitten ‘nucleocapside protein’ (N),

‘phosphoprotein’ (P), ‘matrix protein’ (M), ‘fusion protein’ (F), ‘hemagglutinin’ (H) en ‘large protein’ (L), en de niet structurele eiwitten C en V. Het N- eiwit vormt samen met het RNA-genoom en het RNA-afhankelijke RNA polymerase, bestaande uit de P- en L- eiwitten, het ribonucleoproteïne complex. Het M-eiwit bekleedt de binnenkant van het membraan en is betrokken bij het vrijkomen van het virus uit de cel en de regulatie van de transcriptie. Het F-eiwit wordt als voorlopereiwit gesynthetiseerd (F₀) en wordt geactiveerd door cellulaire proteases door middel van klieving in de F₁ en F₂ subunits. De glycoproteïnen H en F bevinden zich in het membraan en zijn verantwoordelijk voor de binding aan, en fusie met, de gastheercel.^{3,7}

1.2 Levend verzwakte MeV vaccinstam Schwarz

Wildtype MeV is in 1954 voor het eerst geïsoleerd uit een geïnfekteerde jongen genaamd Edmonston.⁸ Door seriële passage op humane cellen en kippen cellen van deze Edmonston wildtype MeV stam is de geattenuerde Edmonston-B vaccinstam gegenereerd. Dit is de eerste MeV vaccinstam tegen mazelen die in 1963 op de markt is gebracht. Dit vaccin was effectief tegen mazelen, maar veroorzaakte bij een significant deel van geïmmuniseerde kinderen koorts en uitslag.^{3,9} Deze vaccinstam is opgevolgd door de van Edmonston-afgeleide verder verzwakte stammen: Edmonston-Zagreb, Moraten, AIK-C en Schwarz.^{3,9}

Het gg-virus uit de onderhavige aanvraag is gebaseerd op de Schwarz-stam die in 1962 is gegenereerd.¹⁰ Dit is één van de levende, sterk verzwakte MeV vaccinstammen die wereldwijd al vele decennia wordt toegepast als veilig en effectief vaccin tegen mazelen; het is vele miljoenen keren toegediend aan kinderen. Het MeV genoom is zeer stabiel en reversie naar virulentie van MeV vaccinstammen is nog nooit waargenomen.^{5, 11,12}

Levende verzwakte MeV stammen, waaronder Schwarz, worden als interessante kandidaten gezien om toe te passen als recombinante vaccinvectoren ter bestrijding van verschillende virale pathogenen.⁹ Dit mede gezien de stabiliteit van het virale genoom, de langdurige immuniteit die geïnduceerd kan worden en het feit dat MeV niet in staat is om te integreren in het gastheergenoom, omdat de virale replicatie volledig cytoplasmatisch is. Er zijn verscheidene pre-klinische en klinische studies die de veiligheid en werkzaamheid van MeV Schwarz als levende, verzwakte, recombinante vaccinvector tegen onder andere *Chikungunya virus* (CHIKV)^{13,14,15}, *Dengue virus* (DENV)^{16,17}, *Zika virus* (ZIKV)¹⁸, *West Nile virus* (WNV)^{19,20}, *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1)^{21,22,23,24,25} en SARS-CoV-1^{26,27} hebben onderzocht.

1.3 gg-MeV-CoV2-S vaccin

Het onderhavige kandidaatvaccin gg-MeV-CoV2-S is gebaseerd op de MeV vaccinstam Schwarz waarin een ‘additional transcription unit’ (ATU) tussen de H- en L-genen van MeV is geïntroduceerd.²⁸ In het gg-MeV is het gen dat codeert voor het Spike (S) oppervlakte-eiwit van SARS-CoV-2 geïnsereerd in de ATU3-site.

Het S-eiwit is belangrijk voor het gastheerbereik (tropisme) van SARS-CoV-2. Het is een glycoproteïne dat als homotrimeer geïntegreerd is in de virale envelop van SARS-CoV-2. SARS-CoV-2 gebruikt het ‘angiotensin converting enzyme’ (ACE)-2 als receptor.^{29,30,31} Daarnaast is onlangs neuropilin-1 (NRP1) als co-receptor voor SARS-CoV-2 geïdentificeerd.^{32,33}

Het S-eiwit bestaat uit twee subeenheden: S1 bevat het receptor-binding domain' (RBD) en is betrokken bij de binding aan de receptor op de gastheercel, terwijl S2 membraanfusie faciliteert. Er is een furine-klievingssite aanwezig op de grens tussen de S1- en S2-subeenheden, die gesplitst wordt tijdens de vorming van virusdeeltjes en een rol speelt in het tropisme van het virus. Membraanfusie gaat gepaard met een conformatieverandering in het S-eiwit van een zogenaamde pre-fusie naar een post-fusie vouwing.³⁰ In het S-eiwit kunnen mutaties worden aangebracht die splitsing van het S-eiwit voorkomen (bijvoorbeeld door het muteren of verwijderen van de furine-klievingssite) of die het S-eiwit in de pre-fusie conformatie kunnen fixeren. In deze gevallen is de fusie-activiteit van het S-eiwit die essentieel is voor infectie, uitgeschakeld.

Met betrekking tot het onderhavige gg-MeV-CoV2-S geeft de aanvrager aan dat het S-gen codon-geoptimaliseerd is en dat er puntmutaties en een deletie zijn aangebracht in de regio's die coderen voor fusie-activiteit en ER-retentie-sigitaal. In een vertrouwelijke bijlage geeft de aanvrager een wat nadere toelichting over de aangebrachte modificaties in het S-gen. De aangebrachte modificaties leiden er volgens de aanvrager toe dat het SARS CoV-2 S-eiwit geen fusie-activiteit meer bezit. Verder verwacht de aanvrager dat het S-eiwit niet in het membraan van gg-MeV-CoV2-S deeltjes geïncorporeerd kan worden. Ook heeft het gemodificeerde S-eiwit geen C-terminaal ER-retentiesigitaal meer, waardoor het eiwit volgens de aanvrager naar het plasmamembraan wordt getransporteerd.

1.4 Voorgenomen werkzaamheden

Het gg-MeV-CoV2-S virus zal elders worden geproduceerd. De voorgenomen werkzaamheden omvatten het proces van ontdooien, het vermengen tot de gewenste concentratie, tot en met het afvullen van de ampullen ('fill and finish') met gg-MeV-CoV2-S in een zogenaamde 'cleanroom' productie- en vulruimte. Zoals reeds vermeld, is dit proces identiek aan een eerder door de COGEM beoordeelde aanvraag betreffende de productiewerkzaamheden van rVSIVΔG-CoV2-S¹ (met uitzondering van een filter die geplaatst is in de toevoerlijn naar de vullijn in het onderhavige geval). De aanvrager verzoekt de onderhavige grootschalige productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S op MI-III inperkingsniveau en kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus (kwaliteitscontroles) op ML-II inperkingsniveau uit te mogen voeren, met inachtneming van aanvullende voorschriften.

Het gg-vaccin zal 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 acces barrier system' (RABS). De SUM bevindt zich bij het overbrengen van het ontdooid product in een mobiele SUM-houder, 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 MI-III 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 opgezet, geïnspecteerd, gecontroleerd en verbonden. Daarna wordt het systeem voorgespoeld met buffers om lekkage van het systeem te kunnen uitsluiten. Het systeem vervoert het product vanaf de SUM (opgesteld in

aangrenzende ruimte), via een filter, een bufferzak (ter voorkoming van luchtbellens in vulslang) en doseerpompen (opgesteld in de productieruimte) naar de vulnaalden, die zich in de RABS bevinden. In de RABS wordt het product volledig automatisch afgevuld in vaccinflesjes. Na afloop wordt het systeem volledig gesloten afgekoppeld (d.m.v. een hittesealer) en als afval afgevoerd via de autoclaaf, of verpakt en afgevoerd als infectieus afval ter verbranding. 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.

De flesjes worden tijdens het vullen automatisch verplaatst. Eventueel gevormde aerosolen tijdens het uitvullen in de ampullen, zullen worden afgezogen door ‘local exhaust ventilation’ (LEV). De afzuiging is geplaatst ter hoogte van de hals van de flesjes, waarbij de flesjes tussen twee afzuigmonden in staan. Eventueel gevormde aerosolen worden door de unit afgezogen en afgevoerd via een HEPA-filter om te voorkomen dat deze in de RABS vrijkomen. Het vaccin wordt gecontroleerd en automatisch afgevuld in de flesjes (het gewicht van de flesjes wordt na het vullen gecontroleerd). 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.

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 inrichting van de productieruimte, de aanwezigheid van onderdruk in de productieruimte, materiaal- en personensluizen, HEPA-filters op de afvoer van uitgaande lucht, kledingvoorschriften voor de medewerkers en (spil)procedures. Er geldt een omkleedprocedure voor het binnengaan en verlaten van de ruimten. Beschermende kleding wordt achtergelaten in de personensluis en kleding wordt gedesinfecteerd, voordat het wordt gewassen. Handen worden gewassen of gedesinfecteerd bij het verlaten van de ruimte. 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.

2. Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft SARS-CoV-2 in pathogeniteitsklasse 3 en MeV in klasse 2 ingedeeld.^{34,35}

In 2016 heeft de COGEM geadviseerd over de inschaling van werkzaamheden met gg-MeV varianten die gebaseerd waren op de sterk verzwakte vaccinstam Schwarz.³⁶ In de twee MeV chimereën werden coderende sequenties van één of meerdere structurele eiwitten van ZIKV tot expressie gebracht. De COGEM achtte het onwaarschijnlijk dat het toevoegen van de ZIKV eiwitten de (gehele) verzwakking van de Schwarz-stam teniet zou doen. In het theoretische geval dat dit wel zou gebeuren, was de

COGEM van oordeel dat het virus niet pathogener zou worden dan het wildtype MeV. De COGEM adviseerde om de productiewerkzaamheden van de twee gg-MeV varianten op ML-II inperkingsniveau uit te voeren en achtte de risico's voor mens en milieu onder de genoemde voorwaarden verwaarloosbaar klein.³⁶

Recent heeft de COGEM geadviseerd over de inschaling van grootschalige productiewerkzaamheden met een gg-Vesicular stomatitis Indiana virus (VSIV) genaamd rVSIVΔG-CoV2-S. In de gg-VSIV was het G-eiwit vervangen door het Spike glycoproteïne (S) van het SARS-CoV-2.¹ Dezelfde aanvrager verzoekt nu identieke werkzaamheden uit te mogen voeren met gg-MeV-CoV2-S.

In dit advies over rVSIVΔG-CoV2-S achtte de COGEM het aannemelijk dat rVSIVΔG-CoV2-S geattenuëerd is ten opzichte van wildtype VSIV, maar kon vanwege het ontbreken van experimentele gegevens geen uitspraak doen over de mate van attenuering. Daarnaast kon op basis van de aangeleverde data geen uitspraak gedaan worden over de verandering van het tropisme en virulentie van deze vaccinkandidaat.¹

De COGEM was van oordeel dat bij de voorgenomen werkzaamheden de kans op verspreiding van rVSIVΔG-CoV2-S naar de productieruimte klein, maar niet geheel uitgesloten kon worden. De kans op verdere uitsleep van rVSIVΔG-CoV2-S naar het milieu achtte de COGEM verwaarloosbaar klein, mits de buitenkant van de ampullen na het vullen niet gecontamineerd waren met gg-virus en contact met dieren die bevattelijk zijn voor deze virussen door medewerkers werd vermeden. Alles in overweging nemende, adviseerde 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.¹

De COGEM signaleerde 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.¹

3. Overwegingen

De aanvrager is voornemens grootschalige productiewerkzaamheden uit te voeren met een gg-virus en verzoekt de productiewerkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S op inperkingsniveau MI-III en kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus (kwaliteitscontroles) op ML-II inperkingsniveau uit te mogen voeren. Voor de overweging van de inschaling van deze werkzaamheden spelen een aantal aspecten een rol, die hieronder puntsgewijs zullen worden behandeld.

3.1 Attenuering van gg-MeV-CoV2-S

Wildtype MeV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. Het gg-virus waarmee de aanvrager productiewerkzaamheden wil uitvoeren is gebaseerd op de levende, sterk verzwakte, MeV vaccinstam Schwarz. Dit is één van de geattenuëerde MeV stammen die wereldwijd al vele decennia wordt toegepast als veilig en effectief vaccin tegen mazelen; het is vele miljoenen keren toegediend aan kinderen. Het

MeV genoom is zeer stabiel en reversie naar virulentie van MeV vaccinstammen is nog nooit waargenomen.^{5,11,12}

In het onderhavige gg-virus is een gemuteerde versie van het gen dat codeert voor het oppervlakte-eiwit S van SARS-CoV-2 geïnsereerd. Ter onderbouwing van de attenuatie van gg-MeV-CoV2-S geeft de aanvrager aan dat de MeV Schwarz vaccinstam is getest als levende, verzwakte recombinante vaccinvectoren tegen onder andere CHIKV^{13,14,15}, DENV^{16,17}, ZIKV¹⁸, *West Nile virus* (WNV)^{19,20}, HIV-1^{21,22,23,24,25} en SARS-CoV-1^{26,27}. Hij stelt met verwijzing naar literatuur dat het vectorplatform veilig is bevonden in dieren en mensen^{9,15}, en geeft aan dat werkzaamheden met hetzelfde MeV vector platform in combinatie met ZIKV inserties door de COGEM zijn ingeschaald op ML-II inperkingsniveau.³⁴

De aanvrager geeft aan dat in gg-MeV-CoV2-S het S-gen van SARS-CoV-2 codon-geoptimaliseerd is en dat er puntmutaties en een deletie in de regio's die coderen voor fusie-activiteit en ER-retentiesignaal zijn aangebracht. In een vertrouwelijke bijlage van het dossier geeft hij een nadere, maar nog steeds globale toelichting, over de mutaties die zijn aangebracht in het gg-MeV-CoV2-S vaccin.

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 concludeert dat door de aangebrachte mutaties het S-eiwit in gg-MeV-CoV2-S niet functioneel is, omdat de fusie-activiteit uitgeschakeld is.

Experimentele gegevens over de attenuering van gg-MeV-CoV2-S zijn niet beschikbaar. In analogie met vergelijkbare recombinante MeV Schwarz vaccinvectoren waarbij heterologe eiwitten van onder andere CHIKV^{13,14,15}, DENV^{16,17}, ZIKV¹⁸, WNV^{19,20}, HIV-1^{21,22,23,24,25} en SARS-CoV-1^{26,27} geïnsereerd zijn, concludeert de COGEM dat gg-MeV-CoV2-S minstens even geattenuerd is als de sterk verzwakte uitgangsstam Schwarz.

Vanwege het ontbreken van onderbouwende experimentele gegevens met gg-MeV-CoV2-S in de aanvraag en gezien de summiere beschrijving van de aanwezige modificaties in het S-gen van SARS-CoV-2 in gg-MeV-CoV2-S, kan de COGEM echter niet vaststellen in hoeverre de gg-MeV-CoV2-S nog verder geattenuerd is.

3.2 Tropisme van gg-MeV-CoV2-S

Met betrekking tot de aanwezige modificaties in het S-gen van SARS-CoV-2 in gg-MeV-CoV2-S geeft de aanvrager aan dat naast het verlies van fusie-activiteit, het gemodificeerde S-eiwit geen C-terminaal ER-retentiesignaal bezit, waardoor het eiwit volgens de aanvrager naar het plasmamembraan wordt getransporteerd. Verder verwacht de aanvrager dat het S-eiwit niet in het membraan van gg-MeV-CoV2-S deeltjes geïncorporeerd kan worden. Hij verwijst hiervoor naar een studie met recombinante MeV vectoren waarin HIV glycoproteïnen tot expressie zijn gebracht en met elektronenmicroscopie is gedemonstreerd dat de HIV envelopeiwitten niet ingebouwd werden in het membraan van de gg-MeV virusdeeltjes.²² Er zijn echter geen experimentele gegevens overlegd over het tropisme van het gg-MeV-CoV2-S vaccin.

In gg-MeV-CoV2-S bezit het S-eiwit weliswaar geen fusie-activiteit meer, maar de COGEM kan, mede gezien het ontbreken van experimentele gegevens, niet uitsluiten dat het S-eiwit van SARS-CoV-2 in het membraan van gg-MeV deeltjes opgenomen zal worden. Het tropisme van wildtype MeV wordt bepaald door de H- en F-eiwitten van MeV. Bij SARS-CoV-2 is het S-eiwit belangrijk voor het tropisme en verantwoordelijk voor de binding aan de cellulaire receptor en infectie van de gastheercellen. Hoewel MeV *in vitro* een breed tropisme heeft, is het tropisme *in vivo* beperkt; MeV infecteert lymfocyten, monocyt en dendritische cellen door binding aan ‘signaling lymphocyte activation molecule’ (SLAM/CD150), en infecteert epitheelcellen door binding aan de receptor nectin-4.³⁷ Aangezien het S-eiwit van SARS-CoV-2 mogelijk kan worden ingebouwd in gg-MeV virusdeeltjes, kan de COGEM niet uitsluiten dat het tropisme van het vaccinvirus als gevolg hiervan uitgebreid wordt, omdat het gg-MeV-CoV2 hierdoor aan cellen kan binden die ACE-2 tot expressie brengen. Na binding van het S-eiwit aan de ACE-2 receptor, kan het F-eiwit van MeV in theorie membraanfusie faciliteren waardoor infectie plaats kan vinden. Echter, zonder experimentele gegevens kunnen hierover geen harde uitspraken gedaan worden. Voor de onderhavige vergunningaanvraag, waarbij de werkzaamheden grootschalige productie onder ingeperkte omstandigheden betreffen, is een mogelijke tropismeverandering echter niet van invloed op de uitkomsten van de milieurisicobeoordeling.

3.3 Werkzaamheden met gg-MeV-CoV2-S

Het productieproces van gg-MeV-CoV2-S is, zoals reeds vermeld, identiek aan de eerder beoordeelde aanvraag over rVSIVΔG-CoV2-S waarover de COGEM in oktober jl. heeft geadviseerd.¹ Zie §1.4 voor een beschrijving van de werkzaamheden.

Dit proces van ontdooien, formuleren en uitvullen in ampullen van gg-MeV-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 gg-MeV-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). De kans op verdere verspreiding van het gg-vaccin naar het milieu acht de COGEM echter verwaarloosbaar klein vanwege onder meer de inrichting van de productieruimte en de aanvullende maatregelen, zoals de kledingvoorschriften voor medewerkers, het desinfecteren van gecontamineerde apparatuur of materialen en vloeibaar afval door middel van gevalideerde methoden, en de (spil)protocollen die gehanteerd worden in geval van incidenten tijdens de vulprocedure.

4. Conclusie

Alles in overweging nemende, acht de COGEM de risico's van de voorgenomen werkzaamheden voor mens en milieu verwaarloosbaar klein indien de productiewerkzaamheden met het gg-MeV-CoV2-S vaccin op MI-III plaatsvinden met inbegrip van de door de aanvrager en Bureau GGO voorgestelde aanvullende maatregelen. Daarnaast acht zij de risico's van de voorgenomen kleinschalige werkzaamheden met het gg-virus (kwaliteitscontroles) voor mens en milieu verwaarloosbaar klein indien dit op ML-II inperkingsniveau plaatsvindt met inachtneming van de aanvullende voorschriften conform artikel 9.1.1.3.3.7 van de Regeling ggo (zijnde het dragen van handschoenen tot over de mouw

van de werkkleding tijdens de werkzaamheden en het uitvoeren van open handelingen in een veiligheidskabinet klasse II).³⁸

4.1 Signalerende opmerking

Onder verwijzing naar het eerdere COGEM advies over rVSIVΔG-CoV2-S waarin eenzelfde signalering is opgenomen¹, signaleert de COGEM met betrekking tot het onderhavige kandidaatvaccin gg-MeV-CoV2-S, dat alvorens deze getest kan worden in klinische studies, experimentele gegevens betreffende eventuele milieurisico's beschikbaar en door onafhankelijke experts beoordeeld moeten zijn, omdat vooralsnog milieurisico's van gg-MeV-CoV2-S niet volledig uit te sluiten zijn door het ontbreken van experimentele gegevens over de attenuering, het tropisme en de virulentie van gg-MeV-CoV2-S.

Referenties

1. COGEM (2020). Inschaling productiewerkzaamheden met het rVSIVΔG-CoV2-S vaccin tegen COVID-19. COGEM advies CGM/201006-03
2. International Committee on Taxonomy of Viruses(ICTV). Virus Taxonomy: 2019 Release <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht: 3 november 2020)
3. Griffin DE (2013). Measles virus. In: Fields virology, 6th edition. Ed. Knipe DM *et al.*, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
4. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Mazelen Richtlijn. <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/mazelen> (bezocht: 3 november 2020)
5. World Health Organization (WHO) Fact sheets. Measles. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/measles> (bezocht: 3 november 2020)
6. Rijksvaccinatieprogramma. Beschermen tegen infectieziekten. Mazelen en vaccineren. <https://rijksvaccinatieprogramma.nl/infectieziekten/mazelen> (bezocht: 3 november 2020)
7. Rima B *et al.* (2019). ICTV Virus Taxonomy Profile: *Paramyxoviridae*. J. Gen. Virol. 100: 1593-1594
8. Enders JF & Peebles TC (1954). Propagation in Tissue Cultures of Cytopathogenic Agents from Patients with Measles. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86: 277-286
9. Mühlebach MD (2017). Vaccine platform recombinant measles virus. Virus Genes. 53: 733-740
10. Schwarz A. (1962). Preliminary tests of a highly attenuated measles vaccine. Am. J. Dis. Child. 103: 216-219
11. Griffin DE & Pan CH (2009). Measles: old vaccines, new vaccines. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 330: 191-212
12. World Health Organization (WHO). Biologicals. Measles. <https://www.who.int/biologicals/vaccines/measles/en/> (bezocht: 3 november 2020)
13. Brandler S *et al.* (2013). A recombinant measles vaccine expressing chikungunya virus-like particles is strongly immunogenic and protects mice from lethal challenge with chikungunya virus. Vaccine. 31: 3718-3725

14. Ramsauer K *et al.* (2015). Immunogenicity, safety, and tolerability of a recombinant measles-virus-based chikungunya vaccine: a randomised, double-blind, placebo-controlled, active-comparator, first-in-man trial. *Lancet Infect. Dis.* 519-527
15. Reisinger EC *et al.* (2019). Immunogenicity, safety, and tolerability of the measles-vectored chikungunya virus vaccine MV-CHIK: a double-blind, randomised, placebo-controlled and active-controlled phase 2 trial. *Lancet* 392L 2718-2727
16. Brandler S *et al.* (2007). Pediatric Measles Vaccine Expressing a Dengue Antigen Induces Durable Serotype-specific Neutralizing Antibodies to Dengue Virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 1: e96
17. Brandler S *et al.* (2010). Pediatric measles vaccine expressing a dengue tetravalent antigen elicits neutralizing antibodies against all four dengue viruses. *Vaccine.* 28: 6730-6739
18. Nürnberger C *et al.* (2019). A Measles Virus-Based Vaccine Candidate Mediates Protection against Zika Virus in an Allogeneic Mouse Pregnancy Model. *J. Virol.* 93: e01485-18
19. Desprès P *et al.* (2005). Live measles vaccine expressing the secreted form of the West Nile virus envelope glycoprotein protects against West Nile virus encephalitis. *J. Infect. Dis.* 191: 207-214
20. Brandler S *et al.* (2012). Measles vaccine expressing the secreted form of West Nile virus envelope glycoprotein induces protective immunity in squirrel monkeys, a new model of West Nile virus infection. *J. Infect. Dis.* 206:212-219
21. Stebbings R *et al.* (2012). Immunogenicity of a Recombinant Measles-HIV-1 Clade B Candidate Vaccine. *PLoS One.* 350397
22. Guerbois M *et al.* (2009). Live attenuated measles vaccine expressing HIV-1 Gag virus like particles covered with gp160DeltaV1V2 is strongly immunogenic. *Virology* 388: 191-203
23. Lorin C *et al.* (2004). A single injection of recombinant measles virus vaccines expressing human immunodeficiency virus (HIV) type 1 clade B envelope glycoproteins induces neutralizing antibodies and cellular immune responses to HIV. *J. Virol.* 78: 146-157
24. Lorin C *et al.* (2012). Toxicology, biodistribution and shedding profile of a recombinant measles vaccine vector expressing HIV-1 antigens, in cynomolgus macaques. *Naunyn Schiedeborgs Arch. Pharmacol.* 385: 1211-1225
25. Stebbings R *et al.* (2013). Immunogenicity of a recombinant measles HIV-1 subtype C vaccine. *Vaccine.* 31: 6079-6089
26. Escriou N *et al.* (2014). Protection from SARS coronavirus conferred by live measles vaccine expressing the spike glycoprotein. *Virology.* 452: 32-41
27. Liniger M *et al.* (2008). Induction of neutralising antibodies and cellular immune responses against SARS coronavirus by recombinant measles viruses. *Vaccine.* 26: 2164-2174
28. Combredet C *et al.* (2003). A Molecularly Cloned Schwarz Strain of Measles Virus Vaccine Induces Strong Immune Responses in Macaques and Transgenic Mice. *J. Virol.* 77: 11546-11554
29. Letko M *et al.* (2020). Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat. Microbiol.* 5: 562-569
30. Wan Y *et al.* (2020). Receptor recognition by novel coronavirus from Wuhan: An analysis based on decade-long structural studies of SARS. *J. Virol.* 94: e00127-20
31. Walls AC *et al.* (2020). Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell* 181: 281-292.e6. doi:10.1016/j.cell.2020.02.058

32. Cantuti-Castelvetri L *et al.* (2020). Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. Science. DOI: 10.1126/science.abd2985
33. Daly JL *et al.* (2020). Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. Science. DOI: 10.1126/science.abd3072
34. COGEM (2020). Pathogeniteitsclassificatie en inschaling van werkzaamheden met het nieuwe coronavirus 2019-nCoV uit Wuhan. COGEM advies CGM/200211-01
35. COGEM (2019). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificaties van een groot aantal humaan- en dierpathogene RNA en DNA virussen (2019). COGEM advies CGM/190905-02
36. COGEM (2016). Inschaling van werkzaamheden met genetisch gemodificeerd *Measles virus*. COGEM advies CGM/160711-02
37. Noyce RS & Richardson CD (2012). Nectin 4 is the epithelial cell receptor for measles virus. Trends Microbiol. 20: 429-439
38. Regling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.
<https://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/> (bezocht: 9 november 2020)