

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

DATUM 30 juli 2024
KENMERK CGM/240730-01
ONDERWERP Advies Controlled human infection met influenzavirus

Geachte heer Jansen,

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag van het Centre for Human Drug Research (CDHR) in Leiden voor een 'controlled human infection' studie met een gg-influenza A virus (IM-MV 24-004_000), deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

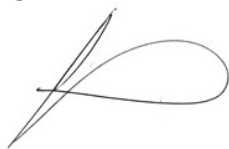
De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico's van een 'controlled human infection' studie met een genetisch gemodificeerd (gg-) H3N2 influenza A virus (gg-TX71). Tijdens de studie worden proefpersonen geïnfecteerd met gg-TX71 (de 'challenge'), om de werking van vaccins of antivirale middelen te testen. Gg-TX71 is identiek aan het wildtype TX71, op één puntmutatie in het NP-gen na.

De aanvrager stelt verschillende maatregelen voor om verspreiding van gg-TX71 naar derden en het milieu te voorkomen. Deelnemers aan de studie zullen in isolatiekamers verblijven tot ze geen gg-TX71 meer uitscheiden. Het is echter niet mogelijk om te verbieden dat deelnemers de studie voortijdig verlaten, waarbij nog kans is op uitscheiding van gg-TX71. In dat geval worden de proefpersonen opgedragen mond-neusmaskers te dragen, 1,5 meter afstand te houden van derden en gevoelige dieren, en virusremmers in te nemen.

De COGEM is van oordeel dat de kans op verspreiding van gg-TX71 verwaarloosbaar klein is, zolang de proefpersonen in isolatie verblijven. De opgelegde maatregelen, indien een proefpersoon de studie voortijdig verlaat, zijn niet af te dwingen en verspreiding van gg-TX71 is dan niet uitgesloten. De COGEM wijst erop dat H3N2-virussen als seizoensgriep circuleren onder de bevolking, en dat bij introductie van gg-TX71 geen sprake is van een verhoogd milieurisico ten opzichte van de bestaande natuurlijke situatie.

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
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Loket Gentherapie
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Drs. K.E. Kok, Ministerie van VWS

Advies over een ‘controlled human infection model’ voor het testen van antivirale middelen en vaccins tegen influenza A

COGEM advies CGM/240730-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag van het Centre for Human Drug Research (CHDR) in Leiden voor een ‘controlled human infection’ studie met een gg-influenza A virus (IM-MV 24-004). Tijdens de studie zullen vrijwilligers gevaccineerd worden met een griepvaccin of krijgen antivirale middelen toegediend. De werking van de middelen of de vaccins zullen getest worden door de proefpersonen bloot te stellen aan een ongeattenuerd gg-influenza A virus (de zogenaamde ‘challenge’). Het challenge-virus is door middel van ‘reverse genetics’ geproduceerd, gebaseerd op de sequentie van de wildtype stam A/Texas/71/2017 (H3N2), hierna TX71 genoemd. Omdat het challenge-virus door recombinant-DNA-technologie is verkregen, wordt het onder de Nederlandse regelgeving beschouwd als genetisch gemodificeerd organisme (ggo). De COGEM is gevraagd te adviseren over de milieurisico’s die verbonden kunnen zijn aan deze klinische studie.

2. Achtergrondinformatie influenza A virus H3N2

Influenza A virus (soort *Alphainfluenzavirus influenzae*) behoort tot de familie *Orthomyxoviridae* en het genus *Alphainfluenzavirus*.¹ Influenza A virussen die bij de mens voorkomen, kunnen onderscheiden worden in aan de mens aangepaste (seizoensgebonden) influenzavirussen die de mens als primaire gastheer hebben, en influenzavirussen die circuleren in dieren en sporadisch mensen infecteren, zoals aviaire influenzavirussen of varkensinfluenzavirussen. Bij deze laatste virussen treedt nauwelijks tot geen verdere overdracht tussen mensen op.

2.1 Genoomorganisatie en ‘reassortment’

Influenza A virussen bezitten een negatief enkelstrengs gesegmenteerd RNA-genoom dat bestaat uit acht unieke genoomsegmenten. Deze coderen voor de virale eiwitten PB1, PB2 en PA (deze drie eiwitten vormen het RNA-polymerase), een nucleoproteïne (NP), de matrixeiwitten M1 en M2, haemagglutinine (HA), neuraminidase (NA), en voor de niet-structurele eiwitten NS1 en NEP (‘nuclear-export protein’, voorheen bekend als NS2).^{2,3} Influenza A virussen worden in verschillende subtypen geclassificeerd op basis van de genetische en antigene eigenschappen van de aanwezige HA- en NA- oppervlakte-eiwitten (voorbeelden: H3N8 en H5N1).²

Kenmerkend voor influenza A virussen is dat zij onderling virale genoomsegmenten kunnen uitwisselen (‘reassortment’). Uitwisseling van genetische informatie tussen virussen uit verschillende genera vindt echter niet plaats.⁴ Wanneer een nieuwe combinatie van segmenten ontstaat, kan het zijn dat er geen of weinig immuniteit bestaat voor dit ‘nieuwe’ virus onder een populatie. Het is de afgelopen ca. honderd jaar een aantal keren voorgekomen dat een ‘nieuw’ dierlijk of humaan-dierlijk influenzavirus (reassortant) in de humane populatie werd geïntroduceerd en een pandemie veroorzaakte.

2.2 Verspreiding en transmissie

Aan de mens aangepaste humane influenzavirussen circuleren wereldwijd onder de humane populatie en veroorzaken seizoensgebonden uitbraken. Sinds 1918 hebben er drie HA-subtypen (H1, H2, H3) en twee NA-subtypen (N1 en N2) gecirculeerd.⁵ Op dit moment zijn H1N1- en H3N2-influenzavirussen de rondgaande seizoensgriepvirussen.⁶

Seizoensgebonden influenzavirussen kunnen efficiënt door de lucht via druppeltjes of aerosolen worden overgedragen van mens-op-mens, bijvoorbeeld door te hoesten of niezen.^{5,7} Overdracht van deze virussen kan ook plaatsvinden via direct contact met besmette individuen of via indirect contact met besmette oppervlakten.⁶

2.3 Ziekteverschijnselen en vaccinatie

De humane influenzavirussen tasten de luchtwegen aan. Dit gaat gepaard met symptomen zoals koorts, hoofdpijn, hoesten, keelpijn, niezen en spierpijn (deze ziekte heet in de volksmond griep). In het algemeen is er sprake van milde tot matige zelflimiterende ziekte en herstelt de patiënt zonder behandeling. Bij het vrijkomen van nieuwe virusdeeltjes sterven de besmette epitheelcellen af. Door deze beschadigingen aan het epitheel kunnen secundaire bacteriële infecties ontstaan, die een belangrijke oorzaak zijn van overlijden na een influenzavirusinfectie.⁸ Ernstige ziekte en overlijden komen vooral voor bij ouderen en mensen met een onderliggende ziekte. De geschatte mortaliteit is 13,8 doden per 100.000 mensen per jaar.⁷

Om risicogroepen tegen seizoensgebonden influenzavirussen te beschermen, wordt elk jaar voorafgaand aan het griepseizoen gevaccineerd. Door de accumulatie van puntmutaties in het HA-oppervlakte-eiwit moeten de componenten die onderdeel zijn van het griepvaccin jaarlijks geëvalueerd en aangepast worden aan de typen influenzavirussen waarvan verwacht wordt dat ze in het betreffende seizoen gaan circuleren.

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager is voornemens een ‘controlled human infection’ studie uit te voeren om griepvaccins en antivirale middelen op hun werkzaamheid te testen. Daarbij zullen gezonde vrijwilligers antivirale middelen of een griepvaccin toegediend krijgen, waarna de proefpersonen worden geïnfecteerd met gg-TX71 (de ‘challenge’). Gg-TX71 is door middel van ‘reverse genetics’ geproduceerd op basis van het klinische isolaat A/Texas/71/2017 (H3N2; clade 3C3a).

De proefpersonen zullen gedurende de studie in isolatiekamers verblijven. De isolatie start twee dagen voorafgaand aan de challenge. Tijdens isolatie is bezoek niet toegestaan. Het gg-TX71 zal intranasaal worden toegediend door middel van een neusspray of druppels toegediend met een pipet. De te gebruiken doses zijn 1,0 ml (0,5 ml per neusgat) van ongeveer 10^4 , 10^5 , of 10^6 TCID₅₀ per dosis. De challenge met gg-TX71 zal plaatsvinden in de isolatiekamer. De proefpersonen zullen tenminste 7 tot 9 dagen in isolatie verblijven en mogen de isolatie pas verlaten wanneer met een gevalideerde qRT-PCR-test is aangetoond dat er geen nasofaryngeale uitscheiding meer plaatsvindt. Het testen op uitscheiding zal 6 dagen na de challenge gestart worden.

Antivirale middelen zullen kort voor of na infectie met de challenge-stam worden toegediend. De te testen vaccins zullen enkele weken tot maanden voor de challenge worden toegediend, omdat het enige tijd duurt om immuniteit op te bouwen.

3.1 Informatie over TX71 (A/Texas/71/2017, H3N2; clade 3C3a)

TX71, ofwel A/Texas/71/2017 (H3N2; clade 3C3a), is een klinisch isolaat uit de Verenigde Staten. Influenza A H3N2 circuleert momenteel wereldwijd als seizoensgriep⁶ en clade 3C3a heeft gecirculeerd in Europa⁹, maar de aanvrager geeft aan dat TX71 voor zover bekend niet in lidstaten van de Europese Unie is gedetecteerd. Mensen zijn de natuurlijke gastheer van H3N2¹⁰, maar H3N2-virussen kunnen ook dieren infecteren zoals pluimvee, varkens en honden.¹¹ Ook kan H3N2 verspreiden tussen fretten.¹²

De aanvrager heeft gekozen voor deze stam omdat er een ‘good manufacturing practices’ (GMP)-stock beschikbaar is en er daarom snel met de studie gestart zou kunnen worden. Ook is er al een challenge-studie met dit virus uitgevoerd in de VS.¹³

De aanvrager heeft de aanwezigheid van neutraliserende antilichamen tegen TX71 getest onder een representatieve groep van 88 vrijwilligers verspreid over Nederland. Uit de resultaten blijkt volgens de aanvrager dat er kruisimmuniteit is van al aanwezige H3N2-antilichamen tegen TX71, wat resulteert in gedeeltelijke immuniteit tegen dit virus onder de Nederlandse bevolking. In de klinische studie zullen alleen proefpersonen worden geïncubeerd die een antilichamentiter <1:40 hebben; de aanvrager schat in dat deze ‘background’ immuniteit laag genoeg is om infectie met gg-TX71 mogelijk te maken. In de challenge-studie met dit virus in de VS is dezelfde antilichamentiter gehanteerd als criterium voor toediening.¹³

3.2 Productie van gg-TX71

Voor de productie van het recombinante virus is het RNA geïsoleerd van een wildtype TX71-isolaat en zijn de verschillende genoomsegmenten met behulp van RT-PCR geamplificeerd. De gesynthetiseerde fragmenten zijn gekloneerd, met als resultaat acht expressieplasmiden die elk de cDNA-kopie van een genoomsegment van het virus bevatten. De expressieplasmiden zijn zo geconstrueerd dat zowel de negatief-strengs virale RNA-segmenten geproduceerd worden (door de humane RNA-polymerase I promotor en terminatorsequenties), als de positief-strengs mRNA's van de virale eiwitten die voor replicatie van het virus nodig zijn (door de aanwezigheid van een humane CMV-promoter en het polyadenyleringssignaal van ‘bovine growth hormone’ in de omgekeerde oriëntatie). Door gelijktijdige transfectie van de acht expressieplasmiden in cellen wordt het virus gelanceerd.^{14,15}

Een ‘pre-master seed’ van gg-TX71 is geproduceerd door transfectie van HEK293-cellen met de acht expressieplasmiden. De oogst is gebruikt voor infectie van HEK293-cellen van een ‘working cell bank’ voor GMP-productie van het virus. Na infectie is het virus geoogst, geconcentreerd, gezuiverd en opgenomen in buffer. Het virus wordt getest op de aanwezigheid van adventieve agentia (‘adventitious agents’) en op de aanwezigheid van bovine polyoma virus, human foamy virus, simian foamy virus, SV40 virus, HIV-1, HIV-2, HTLV-1 en HTLV-2.

3.3 Exclusiecriteria van de proefpersonen

De proefpersonen die deelnemen aan deze studie dienen ermee akkoord te gaan om minstens 7 tot 9 dagen na de challenge en totdat er geen uitscheiding meer plaatsvindt, in een isolatiekamer te blijven. Dit wordt vanaf dag 6 met een gevalideerde kwalitatieve RT-PCR gemonitord.

Uitgesloten van deelname zijn proefpersonen die:

- een actieve influenza-infectie of een infectie met een ander respiratoir virus hebben;
- immuungecompromitteerd zijn;
- minder dan 2 jaar geleden aan een challenge-studie hebben meegedaan waarbij een influenzavirus is gebruikt van hetzelfde subtype;
- minder dan 7 dagen voor de challenge in contact zijn (geweest) met iemand van wie bekend is of vermoed wordt een respiratoire virale ziekte te hebben;
- een influenzavaccin hebben ontvangen minder dan 4 maanden voor de challenge, of die van plan zijn een influenzavaccinatie te ontvangen gedurende de studie (57 +/- 7 dagen na challenge).

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft influenza A virussen generiek in pathogeniteitsklasse 2 ingedeeld, met uitzondering van enkele virulentere virussen (hoogpathogene aviaire influenza (HPAI) H5 en H7, 1918 H1N1 'Spaanse griep', 1957 'Aziatische griep', H7N9 virussen en 'nieuwe' influenza A virussen met pandemisch potentieel) die in pathogeniteitsklasse 3 zijn ingedeeld.¹⁶

De COGEM heeft verscheidene keren geadviseerd over vaccinatiestudies met gg-vaccins in proefpersonen (bijv. een gg-malariaparasiet^{17,18} en gg-vaccins gebaseerd op vacciniavirus MVA¹⁹ of adenovirus²⁰). Zij heeft echter nog niet eerder geadviseerd over een klinische studie waarbij gebruik gemaakt wordt van een gg-challenge virus.

5. Overweging

In de onderhavige aanvraag wordt een challenge uitgevoerd op proefpersonen met influenzavirus gg-TX71. Omdat gg-TX71 met recombinant-DNA-technieken is geproduceerd, valt het onder de Nederlandse ggo-regelgeving. Toediening van het gg-virus vindt plaats terwijl de proefpersoon zich in isolatie bevindt. De proefpersoon mag de isolatieruimte verlaten 7 tot 9 dagen na de challenge, en nadat is aangetoond dat de proefpersoon geen virus meer uitscheidt. Proefpersonen hebben echter de vrijheid hun deelname aan een klinische studie voortijdig te beëindigen. Omdat een proefpersoon die de isolatie voortijdig verlaat, mogelijk nog gg-TX71 uit kan scheiden, zal in de overweging ook op dit scenario ingegaan worden.

5.1 Moleculaire karakterisering

De aanvrager geeft aan dat de inserts in de acht expressieplasmiden, die gebruikt zijn om gg-TX71 te lanceren, volledig zijn gesequenced. De sequenties zijn identiek aan de gepubliceerde sequenties van het wildtype isolaat, met uitzondering van een puntmutatie (A→G) op positie 197 in het NP-gen. Deze puntmutatie leidt tot een aminozuursubstitutie van Asp naar Gly, waarvan de aanvrager niet verwacht dat het invloed heeft op de biologische eigenschappen van het virus. De klinische virusbatch is eveneens

compleet gesequenced om de identiteit te bevestigen. De aanvrager geeft aan dat de sequentie van gg-TX71 identiek is aan de gepubliceerde sequentie van wildtype TX71.

De COGEM is van oordeel dat de aanvrager de moleculaire karakterisering van gg-TX71 voldoende heeft uitgevoerd. De COGEM merkt op dat de aanvrager aangeeft dat de sequentie van het uiteindelijke virus identiek is aan de gepubliceerde sequentie van het wildtype isolaat. Echter, omdat gg-TX71 vanaf de acht expressieplasmiden (met mutatie) is gelanceerd, acht de COGEM het aannemelijk dat ook de sequentie van de uiteindelijke virusbatch op één positie verschilt met die van het wildtype virus.

5.2 Pathogeniteit en tropisme van gg-TX71

Gg-TX71 heeft de sequentie van het wildtype isolaat A/Texas/71/2017, met uitzondering van een puntmutatie in het NP-gen. De aanvrager heeft vertrouwelijke gegevens van dierstudies (uitgevoerd met muizen, fretten en hamsters) aangeleverd en stelt dat hieruit blijkt dat er geen verschil in pathogeniteit en virulentie is geobserveerd tussen gg-TX71 en wildtype TX71. De aanvrager verwacht op basis van die gegevens dat er ook in mensen geen verschil zal zijn. De aanvrager meldt verder dat infectie met gg-TX71 tijdens de eerder uitgevoerde klinische human challenge studie in de VS niet heeft geleid tot ernstige griepsymptomen bij de deelnemers.¹³

De sequentie van gg-TX71 is nagenoeg identiek aan die van het wildtype isolaat, met uitzondering van een puntmutatie in het NP-gen. Het NP-eiwit speelt een belangrijke rol bij de replicatie van het virale genoom, waarbij het een verbinding vormt tussen de virale genoomsegmenten en het RNA-polymerase; het RNP complex. Er zijn echter geen aanwijzingen dat het NP-eiwit een belangrijke rol speelt bij de virulentie van influenza A virussen.^{21,22,23}

De COGEM merkt op dat aanwezigheid van een puntmutatie ten opzichte van de oorspronkelijke gepubliceerde wildtype sequentie veelvuldig voorkomt bij RNA-virussen en gezien kan worden als de natuurlijke variatie binnen het virus. Immers, vanwege de afwezigheid van 'proofreading' tijdens de replicatie van het RNA-genoom door virale RNA-polymerases, worden voortdurend mismatchende nucleotiden ingebouwd. In dierstudies is gebleken dat er geen verschil is in pathogeniteit of virulentie tussen gg-TX71 en het wildtype isolaat. De COGEM is van oordeel dat gg-TX71 dezelfde biologische eigenschappen bezit als wildtype TX71, en dat deze virussen derhalve als fenotypisch en genotypisch identiek beschouwd kunnen worden.

5.3 Het ontstaan van reassortanten na co-infectie van gg-TX71 en wildtype virussen of vaccins

Door co-infectie van een cel met twee (of meer) verschillende influenza A virussen, kunnen genoomsegmenten tussen de virussen worden uitgewisseld. Hierbij kunnen nieuwe 'reassortanten' ontstaan. In de onderhavige klinische studie zouden reassortanten kunnen ontstaan bij gelijktijdige aanwezigheid van gg-TX71 en een levend verzwakt influenzavirusvaccin of een wildtype influenza A virus ten tijde van de challenge. Om mogelijke co-infectie van gg-TX71 met wildtype of vaccinvirussen te minimaliseren, neemt de aanvrager verschillende maatregelen. De scenario's waarbij co-infectie zou kunnen optreden, worden in de volgende paragrafen uitgewerkt.

5.3.1 Vaccinatie met levend verzwakte wildtype influenzavirussen

In de onderhavige klinische studie zal onder meer de werkzaamheid van vaccins worden getest. In het dossier staat niet gespecificeerd welke vaccins getest zullen worden. In deze overweging zal uitgegaan worden van een situatie waarbij deelnemers gevaccineerd zijn met wildtype levende (verzwakte) influenzavaccins, omdat in dit geval reassortment plaats zou kunnen vinden.

De gevaccineerde vrijwilligers zullen enkele weken tot maanden na de vaccinatie blootgesteld worden aan gg-TX71. Wanneer voor vaccinatie levende verzwakte influenzavirussen gebruikt worden, stelt de aanvrager dat 7 tot 14 dagen na toediening van het vaccin de ‘viral load’ verdwenen is.^{24,25} Daardoor verwacht de aanvrager dat er geen viraal materiaal van de vaccinatie in de deelnemer aanwezig zal zijn bij toediening van gg-TX71.

Aangezien er enkele weken tot maanden tussen de vaccinatie en challenge zitten, is de COGEM van oordeel dat de kans op het ontstaan van een reassortant van een levend (verzwakt) wildtype influenzavirus gebruikt voor vaccinatie en gg-TX71 verwaarloosbaar klein is.

5.3.2 Wildtype influenzavirussen aanwezig in de proefpersoon

De proefpersonen zullen twee dagen voorafgaand aan de challenge in isolatie verblijven. De aanvrager geeft aan dat de proefpersonen minimaal één dag voor de challenge met gg-TX71 getest zal worden op de aanwezigheid van influenzavirussen. De gebruikte testen zijn een multiplex assay voor luchtwegvirussen (kwalitatieve test) en een kwantitatieve gevalideerde PCR-test voor influenzavirus A. Als interne controles worden equine arteritis virus (EAV; een RNA-virus) en Phocid herpes virus (PHHV; een DNA-virus) gebruikt, en als positieve controle H3/H1-influenzavirus. De negatieve controle is het kweekmedium. De ‘limit of detection’ is 10-100 kopieën per ml, afhankelijk van de gebruikte testmethode. Alleen als de resultaten negatief zijn, zal de challenge met gg-TX71 daadwerkelijk plaatsvinden.

De COGEM is van oordeel dat de gebruikte assay’s voor de detectie van een infectie met influenzavirussen geschikt zijn om een eventuele infectie met influenza A virus te detecteren, mits in de test de op dat moment circulerende influenza A-stammen worden meegenomen (momenteel H1N1 en H3N2). De mogelijkheid bestaat dat een proefpersoon vlak voor de isolatie en afname van de test geïnfecteerd is geraakt en dat een infectie onder de detectielimiet van de testen ligt. De proefpersoon verblijft twee dagen in isolatie op het moment dat gg-TX71 wordt toegediend. Gezien de gemiddelde incubatietijd van twee dagen voor influenza virussen⁷ is het zeer aannemelijk dat griepsymptomen zich gedurende die periode openbaren. De proefpersoon zal in dat geval worden uitgesloten van deelname aan de studie (zie exclusiecriteria, paragraaf 3.3). De COGEM is derhalve van oordeel dat de kans op de aanwezigheid van wildtype influenzavirussen in de proefpersoon op het moment van de challenge door deze combinatie van maatregelen verwaarloosbaar klein is.

5.3.3 Insleep wildtype influenzavirussen door behandelend personeel

Ook bestaat de mogelijkheid dat een infectie met influenzavirus optreedt bij de proefpersoon tijdens of na de challenge via het behandelend personeel. Om deze kans te minimaliseren, heeft de aanvrager

verschillende maatregelen voorgesteld. De afname van het monster voor de PCR-test bij de proefpersoon vindt plaats in de isolatieruimte waarin de proefpersoon zich gedurende de studie bevindt. Het klinisch personeel draagt standaard beschermende kleding: een schort, handschoenen en chirurgisch masker IIR. Bij aerosol-producerende handelingen, zoals het toedienen van het gg-virus en tijdens monsterafname, zal het personeel een FFP2-masker en bril dragen in plaats van een chirurgisch masker. Klinische staf die de isolatieruimte betreedt, heeft geen griepverschijnselen.

De maatregelen m.b.t. beschermende kleding voor het behandelend personeel zijn ingesteld om zowel het personeel te beschermen, als om ongewenste secundaire besmetting van de proefpersoon te voorkomen. De COGEM merkt op dat in het dossier niet consistent beschreven is vanaf wanneer personeel vrij moet zijn van griepachtige symptomen om de isolatieruimte te mogen betreden: zowel twee dagen voorafgaand aan de challenge bij de proefpersoon is genoemd, als vanaf een negatieve PCR-test voorafgaand aan de challenge.

De COGEM is van oordeel dat met de hierboven genoemde maatregelen de kans op insleep van influenzavirussen door het behandelend personeel verwaarloosbaar klein is, mits het personeel vanaf de start van de isolatieperiode vrij is van griepverschijnselen.

5.4 Verspreiding van gg-TX71 naar het milieu en blootstelling aan derden gedurende de studie

Transmissie van influenza A virussen naar derden is mogelijk door inhalatie van aerosolen of druppels die door hoesten of niezen door geïnfecteerde personen worden uitgescheiden. Ook is het mogelijk besmet te raken door contact met besmette voorwerpen zoals roestvrijstalen of niet-poreuze oppervlakten of papieren tissues. Omdat de proefpersonen zich in isolatie bevinden, is uitsleep van gg-TX71 alleen mogelijk via behandelend personeel, of via besmette voorwerpen die de isolatieruimte verlaten.

De aanvrager geeft aan dat de proefpersonen zich vanaf twee dagen voorafgaand aan de challenge in een isolatiekamer bevinden. Deze mogen ze pas verlaten na tenminste 7-9 dagen en nadat er geen uitscheiding van het virus meer plaatsvindt. Gedurende de studie worden bij de proefpersonen meerdere monsters afgenomen, waaronder van bloed, urine en uit de neus. De aanvrager geeft aan dat de neusmonsters (nasofaryngeale uitstrijkjes, ‘nasal absorptive matrices’ en neusspoelingen) het virus bevatten; deze monsters worden vanaf dag 6 met een kwalitatieve PCR-assay getest om vast te stellen of er geen uitscheiding meer plaatsvindt. Na een negatieve PCR-test mogen de proefpersonen de isolatieruimte verlaten en hoeven er geen aanvullende maatregelen gehanteerd te worden. De aanvrager geeft aan dat uitscheiding alleen via ‘respiratory material’ te verwachten is, en niet via urine of feces. Urine en feces van de proefpersonen zullen niet apart verzameld worden tijdens de isolatieperiode.

Influenza A infecties bij de mens zijn doorgaans gelokaliseerd in de luchtwegen. Er zijn enkele gevallen van patiënten, voornamelijk met onderliggende ziekte of immuungecompromitteerden, waarin wel virus in de feces werd aangetoond.²⁶ Deze zijn echter uitgesloten van deelname aan deze studie. De COGEM is van oordeel dat er een verwaarloosbaar klein milieurisico verbonden is aan het lozen van feces en urine op het riool.

Tijdens isolatie worden de proefpersonen alleen benaderd door personeel in beschermende kleding, zoals beschreven in paragraaf 5.3.3. De aanvrager geeft aan dat klinisch personeel en labmedewerkers, in geval van een accidentele blootstelling aan het virus, met neuramidaseremmers zullen worden behandeld, thuis in isolatie zullen gaan en de hygiënemaatregelen zullen volgen zoals ook aan proefpersonen die voortijdig de studie verlaten wordt voorgeschreven (zie paragraaf 5.5).

De proefpersonen mogen de isolatieruimte verlaten na minstens 7-9 dagen, en een negatieve PCR-test. De gemiddelde duur van virusuitscheiding in een eerdere ‘controlled human infection’ studie met gg-TX71 in gezonde vrijwilligers in de VS was 4,4 dagen (met een 95%-‘confidence interval’ van 3,8 tot 5,1 dagen).¹³ De isolatieperiode, waarbij de isolatieruimte op zijn vroegst ruim na de gemiddelde periode van virusuitscheiding verlaten kan worden, zal voor de meeste gezonde proefpersonen voldoende zijn. De COGEM merkt op dat in de eerder uitgevoerde human challenge studie met hetzelfde virus, bij 20% tot 25% van de proefpersonen langer dan acht dagen virusuitscheiding plaatsvond.¹³ Het is daarom mogelijk dat sommige proefpersonen langer dan 9 dagen PCR-positief blijven.

In het dossier wordt beschreven dat behandelend personeel bij aerosol-producerende handelingen een FFP2-masker en bril zal dragen. De COGEM merkt op dat een geïnfecteerd proefpersoon virus kan uitscheiden via aerosolen en kleine druppels door hoesten of niezen. Zij adviseert daarom het dragen van een FFP2-masker en bril bij alle contactmomenten met de proefpersoon na de challenge. De aanvrager geeft aan dat het medisch personeel de standaard ziekenhuishygiënemaatregelen voor contact- en druppelisolatie volgt. De COGEM neemt aan dat daarmee de maatregelen zoals vastgesteld door de Samenwerkingsverband Richtlijnen Infectiepreventie (SRI) worden bedoeld.²⁷ Daaronder valt ook het uitvoeren van handhygiëne (desinfectie) bij het verlaten van de isolatieruimte, ook wanneer handschoenen gedragen worden. De COGEM gaat ervan uit dat materiaal uit de isolatieruimte volgens de standaard ziekenhuishygiëne- of ggo-protocollen wordt afgevoerd.

De COGEM is van oordeel dat de kans op verspreiding van gg-TX71 naar derden of het milieu verwaarloosbaar klein is, zolang de proefpersonen in isolatie verblijven (gedurende de voorgestelde isolatieperiode van minstens 7-9 dagen, totdat met een negatieve PCR-test is aangetoond dat er geen virus meer wordt uitgescheiden) en in combinatie met de voorgestelde en bovengenoemde additionele maatregelen.

5.5 Situatie waarbij de proefpersoon de isolatie voortijdig verlaat

Een proefpersoon die deelneemt aan een klinische studie kan te allen tijde stoppen met deelname zonder opgaaf van reden. Indien proefpersonen uit onderhavige klinische studie de isolatie voortijdig willen verlaten, kan niet uitgesloten worden dat zij het gg-virus buiten de ingeperkte ruimte kunnen verspreiden. Om de kans op het vroegtijdig verlaten van deelnemers te minimaliseren, worden door de aanvrager verschillende maatregelen genomen:

- Deelnemers worden naast een medische keuring ook gescreend of zij mentaal in staat zijn gedurende een lange periode in isolatie te blijven. Hiervoor wordt samengewerkt met de afdeling 'Educational Psychology', van het 'Psychology Institute' van Universiteit Leiden.
- De deelnemers krijgen een duidelijke uitleg over het nut van de isolatieperiode. Hierbij wordt uitgelegd dat deze periode niet alleen voor hun eigen veiligheid is, maar ook ervoor zorgt dat ze het virus niet verspreiden naar derden. De gedachte hierachter is dat wanneer proefpersonen geïnformeerd worden waarom bepaalde activiteiten nodig zijn, zij goed geneigd zijn zich daaraan te houden.
- De deelnemers zullen twee dagen in isolatie verblijven voordat zij blootgesteld worden aan gg-TX71. Dit wordt gedaan om de inclusie- en exclusiecriteria nogmaals te testen. Voordat zij geïnoculeerd worden, wordt gevraagd hoe zij de afgelopen dagen in isolatie hebben ervaren en of zij het aankunnen om nog 7-9 dagen in isolatie te blijven. Als de deelnemer of arts hieraan twijfelt, zal de deelnemer niet worden geïnoculeerd.
- Om het verblijf in isolatie zo prettig mogelijk te laten verlopen en verveling tegen te gaan, wordt een speciaal programma opgesteld in samenwerking met het 'Psychology Institute'.

Wanneer deelnemers toch besluiten de isolatie voortijdig te verlaten, wordt hen gevraagd of zij goede hygiënemaatregelen toe willen passen, een mond/neuskapje te dragen als ze in contact komen met andere mensen of gevoelige dieren, en 1,5 meter afstand te bewaren. Daarnaast worden neuraminidase-remmers (antiviraal middel) voorgeschreven, in ieder geval als deelnemers voor studiedag 8 de studie verlaten en uitscheiding nog mogelijk is. Hiermee kan de kans op transmissie binnen een huishouden verkleind worden.²⁸

De aanvrager stelt dat uit eigen onderzoek onder gezonde vrijwilligers is gebleken dat er voldoende (kruis)immuniteit tegen (gg-)TX71 bestaat onder de Nederlandse bevolking. Daarnaast worden door de jaarlijkse griepvaccinatie, waarin vaccinatie tegen H3N2-stammen wordt meegenomen,²⁹ kwetsbare personen beschermd tegen ernstige ziekte door deze influenzavirussen. In 2022 zijn volgens de Monitor Vaccinatiegraad van het NIVEL ongeveer 56,8% van de mensen die zijn uitgenodigd voor de griepvaccinatie, daadwerkelijk gevaccineerd.³⁰ Ook is uit onderzoek gebleken dat gg-TX71 gevoelig is voor de antivirale middelen tegen influenza oseltamivir, zanamivir, peramivir en baloxivir maboxil. Gebaseerd op de genetische sequentie is gg-TX71, net als wildtype TX71, niet gevoelig voor de antivirale middelen amantadine of rimantadine. Op basis van deze gegevens en bovenstaande maatregelen concludeert de aanvrager dat de kans dat een proefpersoon de studie voortijdig verlaat en gg-TX71 naar derden overdraagt, verwaarloosbaar klein is.

De COGEM is van oordeel dat, ondanks de uitgebreide en zorgvuldige maatregelen die de aanvrager voorstelt om te voorkomen dat een proefpersoon voortijdig de isolatie zal verlaten, nooit geheel uitgesloten kan worden dat deelnemers – om welke reden dan ook – de studie verlaten. Indien de deelnemers na het verlaten van de studie het advies van de aanvrager opvolgen, en de combinatie van alle maatregelen hanteren (hygiënemaatregelen, mond/neuskapje, 1,5 meter afstand en neuraminidase-remmers), is de COGEM van oordeel dat de kans op verspreiding van gg-TX71 voldoende geminimaliseerd is. Indien de

deelnemer besluit deze adviezen geheel of deels te negeren, kan niet uitgesloten worden dat derden (mensen of gevoelige dieren) blootgesteld worden aan gg-TX71 en kan verspreiding van het virus optreden.

5.6 Onderscheid gg-TX71 en wildtype TX71

De COGEM merkt op dat gg-TX71 fenotypisch en genotypisch eender is aan het wildtype isolaat TX71. COGEM heeft geen redenen om aan te nemen dat TX71 pathogener of virulenter is dan andere H3N2-stammen die voortdurend in de samenleving circuleren. Ten opzichte van de huidige situatie, waarbij H3N2-stammen reeds circuleren binnen de populatie, ziet de COGEM geen verhoogd risico van onbedoelde introductie van (gg-)TX71 ten opzichte van de huidige situatie, waarbij H3N2-stammen reeds circuleren binnen de populatie.

Ook kan niet uitgesloten worden dat reassortment plaatsvindt tussen (gg-)TX71 en circulerende influenza A virussen. De COGEM is van oordeel dat, in het geval een reassortant zou ontstaan tussen (gg-)TX71 en een wildtype influenzavirus, het mogelijke schadelijke effect niet groter zal zijn dan dat van een reassortant tussen twee wildtype stammen.

Alles in overweging nemend, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij onderhavige studie niet groter zijn dan wanneer de challenge met het wildtype isolaat uitgevoerd zou worden.

5.7 Signalerende opmerking met betrekking tot ggo status van gg-TX71

Omdat gg-TX71 geproduceerd is met recombinant-DNA-technologie, wordt het onder de ggo-regelgeving gezien als een ggo, en dient deze aanvraag onder de ggo-regeling behandeld te worden. Dit roept de onderliggende vraag op of een organisme als ggo moet worden beschouwd als de genoomsequentie identiek is aan het wildtype organisme. Onlangs heeft Finland de Europese Commissie om verduidelijking gevraagd, omdat er verschillende opvattingen bestaan over de juridische status van dergelijke organismen.³¹

6. Advies

In onderhavige klinische 'controlled human infection' studie, zullen proefpersonen blootgesteld worden aan een H3N2-influenzavirus. Het virus (gg-TX71) valt onder de Nederlandse ggo-regelgeving omdat het met recombinant-DNA-technieken is geproduceerd. Tijdens de studie en totdat uitscheiding van virus is gestopt, zullen de proefpersonen in isolatie verblijven. Proefpersonen kunnen echter altijd een klinische studie verlaten, waarbij verspreiding van het virus mogelijk is.

De COGEM beschouwt het te gebruiken gg-virus feno- en genotypisch eender aan het wildtype isolaat. Daarmee zijn de risico's voor mens en milieu van deze studie gelijk aan de situatie waarbij het wildtype virus gebruikt zou worden.

Tijdens de isolatieperiode van de proefpersoon, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu van deze klinische studie verwaarloosbaar klein zijn, met de voorgestelde maatregelen.

De COGEM is van oordeel dat, ondanks alle genomen maatregelen, nooit volledig uitgesloten kan worden dat een proefpersoon de studie verlaat terwijl deze nog virus uitscheidt. Indien de proefpersoon zich in dat geval niet houdt aan alle opgelegde maatregelen om transmissie van virus te voorkomen, is verspreiding van gg-TX71 (met mogelijk nadelige effecten, zoals ziekte) naar derden en gevoelige dieren niet uitgesloten. De COGEM merkt hierbij op dat eventuele transmissie van gg-TX71 geen additioneel risico vormt boven de al bestaande natuurlijke situatie waarin vergelijkbare H3N2-stammen als seizoensgriep circuleren onder de bevolking.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht: 9 juli 2024)
2. Wright PF *et al.* (2013). Chapter 41 Orthomyxoviruses. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
3. McCauley JW *et al.* (2012). The Negative Sense Single Stranded RNA viruses. Family *Orthomyxoviridae*. In Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Ed. King AMQ *et al.*, Elsevier Academic Press, Amsterdam
4. Shaw ML & Palese P. (2013). Chapter 40 *Orthomyxoviridae*. In: Fields Virology, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
5. Long JS *et al.* (2019). Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. Nat. Rev. Microbiol. 17: 67-81
6. World Health Organisation. Influenza (Seasonal). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)) (bezocht: 16 juli 2024)
7. Centers for disease control and prevention. Seasonal influenza. <https://www.ecdc.europa.eu/en/seasonal-influenza> (bezocht: 16 juli 2024)
8. Influenza Richtlijn. <https://lci.rivm.nl/richtlijnen/influenza> (bezocht: 16 juli 2024)
9. European Centre for Disease prevention and control. Surveillance report. Influenza virus characterisation. Summary Europe, July 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/influenza-virus-characterisation-july-2020.pdf>
10. Thompson AJ & Paulson JC (2021). Adaptation of influenza viruses to human airway receptors. J. Biol. Chem. 296: 100017
11. Centers for disease control and prevention. About Influenza A in animals. [About Influenza A in Animals | Influenza in Animals | CDC](#) (bezocht 19 juli 2024)
12. Jones JC *et al.* (2020). Influenza A and B viruses with reduced baloxavir susceptibility display attenuated in vitro fitness but retain ferret transmissibility. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 117: 8593-8601
13. Clinicaltrial.gov. Influenza Challenge Study to Determine the Optimal Infection Dose and Safety of a Recombinant H3N2 (A/Texas/71/2017 (H3N2, Clade 3C3a) Influenza Strain. (bezocht: 11 juli 2024)
14. Hoffmann E (2000). "Ambisense" approach for the generation of influenza A virus: vRNA and mRNA synthesis from one template. Virology. 267: 310-317

15. Hoffmann E (2000). A DNA transfection system for generation of influenza A virus from eight plasmids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97: 6108-6113
16. COGEM (2020). Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza A virussen. COGEM-advies CGM/201006-02
17. COGEM (2021). Klinische malaria vaccinatiestudie met muggen en de *Plasmodium falciparum* deletiemutant PfΔmei2. COGEM-advies. CGM/210121-01
18. COGEM (2021). Klinische malaria vaccinatiestudie met muggen en de *Plasmodium falciparum* deletiemutant PfΔmei2. COGEM-advies. CGM/210121-02
19. COGEM (2020). Klinische studie met gg-vaccin MVA-MERS-S_DF1 ter bescherming tegen MERS-CoV. COGEM-advies CGM/201019-01
20. COGEM (2020). Klinische studie met een adenovirale vector (Ad26COVS1) ter preventie van COVID-19. COGEM-advies CGM/200710-02
21. Hu J *et al.* (2018). PA-X: a key regulator of influenza A virus pathogenicity and host immune responses. *Med. Microbiol. Immunol.* 207: 255–269
22. Chen-Yu Hsu A (2018). Influenza virus: A master tactician in innate immune evasion and novel therapeutic interventions. *Front Immunol.* 9: 743
23. Basler CF *et al.* (2008). Progress in identifying virulence determinants of the 1918 H1N1 and the Southeast Asian H5N1 influenza A viruses. *Antiviral Res.* 79: 166–178
24. Han A *et al.* (2019). A dose-finding study of a wild-type influenza A(H3N2) virus in a healthy volunteer human challenge model. *Clin. Infect. Dis.* 69: 2082-2090
25. Ortiz JR *et al.* (2023). A multicenter, controlled human infection study of influenza A(H1N1)pdm09 in healthy adults. *J. Infect. Dis.* 228: 287-298
26. Chan MC *et al.* (2011). Seasonal influenza A virus in feces of hospitalized adults. *Emerg. Infect. Dis.* 17: 2038-2042
27. Samenwerkingsverband richtlijnen infectiepreventie. <https://www.sri-richtlijnen.nl/isolatie/module-2-1>. <https://www.sri-richtlijnen.nl/isolatie/module-2-1> (bezocht: 23 juli 2024)
28. Hirotsu N *et al.* (2019). The effect of neuraminidase inhibitors on household transmission in Japanese patients with influenza A and B infection: A prospective, observational study. *Influenza Other RESpi Viruses.* 13: 123-132
29. Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM). Bijsluiters Griepvaccins binnen het Nationaal Programma Grieppreventie. [Bijsluiters Griepvaccins binnen het Nationaal Programma Grieppreventie | RIVM](#) (bezocht: 11 juli 2024)
30. Heins, M *et al.* (2023). Monitor Vaccinatiegraad Nationaal Programma Grieppreventie (NPG) 2022. Utrecht: Nivel, [Monitor Vaccinatiegraad Nationaal Programma Grieppreventie \(NPG\) 2022. | Nivel](#)
31. European Commission (2023). Report from the commission on the experience of Member States with Directive 2009/41/EC of the European Parliament and of the Council of 6 May 2009 on the contained use of genetically modified micro-organisms for the period 2019 – 2021. COM/2023/75 final. eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:52023DC0075