

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Milieu
Mevrouw S.A.M. Dijkma
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 20 januari 2016
KENMERK CGM/160120-01
ONDERWERP Advies: Veterinaire studie met een kippenvaccin tegen de ziekte van Marek, Newcastle Disease en Infectious Bursal Disease

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van de vergunningaanvraag IM-MV 15-011 met de titel 'Vaccination of chickens with a herpesvirus of turkey vaccine with inserted the F-gene of *Newcastle disease virus* and the VP2 gene of *Infectious bursal disease virus*', van Intervet International B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over een veterinaire studie bij kippen met genetisch gemodificeerd (gg-) *Meleagrid herpesvirus 1* (MeHV-1). In de virusstam FC-126 zijn twee eiwitten uit andere virussen ingebracht, het VP2 uit *Infectious bursal disease virus* en het F uit *Newcastle disease virus*. De op deze wijze verkregen gg-vaccinstam HVT-ND-IBD is ontwikkeld om kippen te beschermen tegen de ziekte van Marek (MD), Newcastle Disease (vogelpest) en Infectious Bursal Disease.

De vaccinstam waarop HVT-ND-IBD is gebaseerd (FC-126), is niet pathogeen en wordt al meer dan 30 jaar als vaccin tegen MD gebruikt. FC-126 kent een lange historie van veilig gebruik.

Bij de introductie in het milieu van een genetisch gemodificeerd organisme (ggo) acht de COGEM het voor de milieurisicoanalyse van belang dat de genetische samenstelling van het ggo in voldoende detail experimenteel is gekarakteriseerd en dat bewijs hiervan wordt overlegd. Op basis van deze informatie kan vastgesteld worden of het ggo overeenkomt met zijn theoretische beschrijving.

De COGEM is van mening dat de risico's voor mens en milieu bij deze veterinaire studie met HVT-ND-IBD onder de voorgenomen werkvoorschriften vermoedelijk verwaarloosbaar klein zijn. Het dossier is echter onvolledig omdat de overgangen tussen de sequenties van de insert met de ingebrachte genen en het ouderorganisme onvoldoende vastgesteld zijn. Daarnaast ontbreken er gegevens over het tropisme van het gg-virus. De COGEM acht aanlevering van deze aanvullende informatie noodzakelijk alvorens zij tot een definitief eindoordeel kan komen.



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. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo
 Mr. J.K.B.H. Kwisthout, Ministerie van IenM

Met het oog op eventuele belangverstrengeling zijn de COGEM leden dr. T. Boekhout en dr. D. Goovaerts niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Veterinaire studie met een kippenvaccin tegen de ziekte van Marek, Newcastle Disease en Infectious Bursal Disease

COGEM advies CGM/160120-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over de introductie in het milieu van het recombinant kippenvaccin HVT-ND-IBD. Het genetisch gemodificeerde organisme (ggo) HVT-ND-IBD is ontwikkeld om pluimvee (voornamelijk kippen) te beschermen tegen de ziekte van Marek (MD), Newcastle Disease (ND) en Infectious Bursal Disease (IBD). De vergunningsaanvraag is ingediend door Intervet International B.V.. Ter voorbereiding voor de aanvraag van een Europese marktregistratie, wil de aanvrager een veldproef uitvoeren in kippen en kippeneieren.

1.1 Ziekte van Marek

MD wordt veroorzaakt door *Gallid herpesvirus 2* (GaHV-2), ook bekend onder de naam Marek's disease virus (sero)type 1 (MDV-1) of Marek's disease virus (MDV). GaHV-2 behoort tot de familie *Herpesviridae*, de subfamilie *Alphaherpesvirinae*, en het genus *Mardivirus*.¹ MD komt voor bij pluimvee en wordt gekenmerkt door een woekering van witte bloedcellen (T-cel lymfoom) waardoor het zenuwstelsel wordt aangetast. De ziekte gaat mede gepaard met verlamingsverschijnselen en kent een acute en latente fase.^{2,3}

Kippen worden beschouwd als de natuurlijke gastheer van GaHV-2, maar ook kwartels, kalkoenen en fazanten kunnen geïnfecteerd worden.⁴ Het virus is zeer infectieus. Bij niet gevaccineerde populaties kan de morbiditeit en mortaliteit oplopen tot 90%.^{2,3} Uitscheiding van het virus vindt plaats via de veerfollikels. Verspreiding van het virus verloopt via huidschilfers en besmette mest.⁴ De virusdeeltjes kunnen langere tijd in het milieu (stof, mest) overleven.⁴ Besmetting vindt plaats via de ademhalingswegen waarbij infectie optreedt van de epitheelcellen en macrofagen van de onderste luchtwegen.^{2,4} Vervolgens verspreidt het virus zich naar de lymfoïde organen zoals de thymus, de Bursa van Fabricius en de milt. In de daarop volgende latente fase verspreidt het virus zich naar de epitheliale cellen van ingewanden en huid.^{2,4} Er zijn geen aanwijzingen dat het virus pathogeen is voor zoogdieren. Experimenteel onderzoek heeft aangetoond dat GaHV-2 niet kan repliceren in zoogdiercellen (mens, hamster, hond, konijn, rat, rund) of in zoogdieren (hamster, klauwaap, rat).^{5,6}

1.2 Newcastle Disease

Newcastle disease virus (NDV) is de veroorzaker van ND ofwel pseudovogelpest in verschillende soorten vogels (waaronder kippen, fazanten, papegaaien en valkparkieten). NDV behoort tot de familie *Paramyxoviridae* en het genus *Rubulavirus*.⁷ Afhankelijk van de virulentie en het weefsel-tropisme van NDV worden drie groepen onderscheiden. De eerste groep omvat de velogene (virulente) stammen die een ernstige ziekte veroorzaken en gepaard gaan met grote sterfte. Mesogene stammen veroorzaken luchtweginfecties en neurologische verschijnselen en hebben een lage mortaliteit. Lentogene stammen veroorzaken een milde infectie van de luchtwegen of

asymptomatische infecties. Kippen zijn vatbaarder voor NDV dan eenden of ganzen.⁸ De symptomen van pseudovogelpest zijn vooral ademhalings- en zenuwstoornissen, en zwellingen van het weefsel rond de ogen en in de nek.

Het virus wordt overgedragen door direct contact met uitwerpselen van geïnfecteerde vogels, maar ook door o.a. besmet voer, strooisel, water, via kleding en aerosolen. Vooral in mest kan het virus een lange tijd infectieus blijven.⁸ Wereldwijd wordt pluimvee gevaccineerd tegen NDV. De gebruikte vaccinstammen zijn afgeleid van lentogene virusstammen. NDV kan conjunctivitis veroorzaken bij de mens.⁹

1.3 Infectious bursal disease virus

Infectious bursal disease virus (IBDV) veroorzaakt IBD en wordt ook wel de ziekte van Gumboro genoemd. IBDV behoort tot de familie van de *Birnaviridae* en het genus *Avibirnavirus*.¹⁰ De ziekte komt voor bij zowel leg- als vleeskuikens. Geïnfecteerde kalkoenen vertonen geen ziekteverschijnselen.¹¹ Het virus infecteert en doodt de B-lymfocyten in de Bursa van Fabricius waardoor immuunsuppressie optreedt en een verhoogde vatbaarheid voor ziekten ontstaat.^{12,13} De Bursa van Fabricius is een belangrijk orgaan voor de ontwikkeling van het immuunsysteem bij jonge kippen. IBDV is een erg besmettelijke ziekte bij jonge kippen. De mortaliteit is afhankelijk van de virusstam en ligt tussen 0 en 100%. Besmetting vindt plaats via de orale route. Er is een vaccin beschikbaar. Het virus kan humane cellen infecteren, maar is niet geassocieerd met een ziekte bij de mens.¹⁴

2. HVT-ND-IBD

2.1 Ouderorganisme

HVT-ND-IBD is een recombinant vaccin waarbij in het virale genoom van het *Meleagrid herpesvirus 1* (MeHV-1) genen van IBDV en NDV zijn ingebouwd. MeHV-1 behoort tot de familie *Herpesviridae*, subfamilie *Alphaherpesvirinae*, genus *Mardivirus*, en is ook bekend onder de naam Turkey herpesvirus, Herpesvirus of turkeys (HVT) en Marek's disease virus (sero)type 3 (MDV-3).¹ Hoewel MeHV-1 en GaHV-2 nauw verwant zijn, veroorzaakt MeHV-1 geen ziekteverschijnselen.¹ De belangrijkste gastheer van MeHV-1 is de kalkoen. Besmetting met het virus vindt plaats via de luchtwegen.⁴ Binnen het lichaam verplaatst het virus zich via lymfocyten. Uitscheiding van het virus vindt plaats via de veerfollikels, verspreiding via huidschilfers en besmette mest. Naast de kalkoen kan MeHV-1 ook duiven, kwartels, fazanten en kippen infecteren.⁴ Hoewel in kippen en fazanten wel virusrepletie plaatsvindt, wordt het virus in vergelijking met kalkoenen in veel mindere mate uitgescheiden en vindt verspreiding onder de kippenpopulatie nauwelijks plaats. Experimentele studies wijzen uit dat MeHV-1 niet kan repliceren in zoogdiercellen (mens, hamster, hond, konijn, rat, rund) of in zoogdieren (klauwaap).^{5,6} MeHV-1 is in staat een immuunrespons tegen GaHV-2 op te wekken. De MeHV-1 stam 'FC-126' wordt al 30 jaar buiten Europa veelvuldig als vaccinstam tegen MD gebruikt, mede omdat deze apathogene stam zich na vaccinatie niet in de kippenpopulatie verspreidt.^{4,5}

2.2 Virale vector

Om HVT-ND-IBD te genereren is in FC-126 een insert gekloneerd die twee expressiecassettes bevat. Deze twee expressiecassettes brengen respectievelijk een gen uit NDV dat codeert voor het fusie-eiwit F en een gen uit IBDV dat codeert voor het capsid eiwit VP2 tot expressie. De expressiecassette die VP2 tot expressie brengt, bestaat uit de murine cytomegalovirus immediate early (IE) promotor, het gen dat codeert voor VP2 en het polyadenylatiesignaal van *Simian virus 40* (SV40). De andere expressiecassette bevat de humane cytomegalovirus (HCMV) IE promotor, het gen dat codeert voor F van NDV en de terminator van HCMV IE regio.

Om het gg-virus HVT-ND-IBD te produceren zijn overlappende DNA fragmenten (cosmiden) van het virus FC-126 in kippenembryofibroblasten getransfecteerd. Eén van deze cosmiden, de homologievector, bevat behalve het insert met de expressiecassettes de volgende recombinatiesequenties: 3,7 kb van FC-126 aan de 5' kant van het insert en 3,5 kb van FC-126 aan de 3' kant van het insert. Door homologe recombinatie van de overlappende delen ontstaat de virale vaccinstam. Met de virale vaccinstam worden vervolgens embryonale kippenfibroblasten geïnfecteerd. Deze fibroblastensuspensie met levend cel geassocieerd virus zal onder de naam HVT-ND-IBD bij kippen en bevruchte eieren als vaccin toegepast worden, met als doel een immuunrespons tegen MD, ND en IBD op te wekken.

2.3 Werkzaamheden met HVT-ND-IBD

De aanvrager geeft aan dat de productie en kwaliteitscontrole van HVT-ND-IBD plaatsvindt bij Merck/MSD Animal Health in de Bilt. De Nederlandse veldstudie met HVT-ND-IBD zal bestaan uit het vaccineren van bevruchte kippeneieren en eendagskuikens om de veiligheid en de effectiviteit van HVT-ND-IBD te bepalen. De experimenten zullen op twee locaties worden uitgevoerd in conventionele kippenschuren. De aanvrager geeft aan dat de schuren afgesloten zijn en dat deze alleen toegankelijk zijn voor geautoriseerd personeel. Er is een hygiënesluis aanwezig. Er zal van kleding en schoenen gewisseld worden voordat de schuren betreden worden en na afloop blijft de kleding achter in de sluis. Daarnaast zijn de luchtopeningen afgesloten met gaas zodat er geen vogels naar binnen kunnen. Eventuele kalkoenenboerderijen zijn minimaal 5 kilometer verwijderd van de locaties waar het experiment wordt uitgevoerd. De studie zal tot maximaal 10 weken na de vaccinatie duren. In de studie zullen in totaal maximaal 60.000 eendagskuikens/eieren geïncubeerd worden. Het vaccin zal *in ovo* aan 18 dagen oude kippenembryo's of subcutaan aan eendagskuikens worden toegediend. Er zullen voor, tijdens en aan het eind van de studie bloedmonsters worden genomen om inzicht te krijgen in de afweerreactie tegen het vaccin. De monsters zullen op een andere locatie geanalyseerd worden onder een eerder afgegeven vergunning.¹⁵ Alle gevaccineerde kippen zullen na afloop van het experiment geëuthanaseerd worden en voor destructie worden aangeboden. Bedrijfsafval zoals mest en strooisel zal verzameld worden in containers en ter verbranding worden afgevoerd. De stal zal gereinigd en gedesinfecteerd worden volgens standaardprocedures en het afvalwater zal worden opgevangen in de mestkelder. De aanvrager geeft aan dat het afvalwater binnen het vergunningsgebied over het land kan worden uitgereden.

3. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft nog niet eerder geadviseerd over HVT-ND-IBD. In 2012 heeft de COGEM wel geadviseerd over een veterinaire studie in kippen met Innovax-ILT.¹⁶ Dit vaccin is gebaseerd op dezelfde MeHV-1 vaccinstam FC-126, maar bevat de coderende sequentie voor de glycoproteïnen gD en gI van *Gallid herpesvirus 1*. Het vaccin was bedoeld om kippen te beschermen tegen MD en infectieuze laryngotracheïtis. Doordat belangrijke gegevens over de moleculaire karakterisering en de stabiliteit van het vaccin in de aangeleverde informatie ontbraken, kon de COGEM aanvankelijk niet tot een definitief oordeel komen over de eventuele milieurisico's. Na aanlevering van de ontbrekende gegevens was de COGEM van mening dat de milieurisico's van de veldstudie met Innovax-ILT verwaarloosbaar klein zijn.^{17,18}

Eerder heeft de COGEM ook geadviseerd over de introductie in het milieu van een ander op MeHV-1 gebaseerd recombinant vaccin. In dit vaccin was de coderende sequentie van het F-gen van het NDV geïnsereerd. De COGEM concludeerde dat, mits uitgevoerd onder de omstandigheden beschreven door de aanvrager, er geen risico's waren voor mens en milieu.^{19,20}

In 2012 heeft de COGEM tevens advies uitgebracht over een herpesvirusvaccin bij lama's.²¹ Het betrof een op MeHV-1 gebaseerd recombinant vaccin waarin de coderende sequentie voor VP2 van het IBDV was gekloneerd. De COGEM concludeerde dat er voor toepassing bij lama's geen risico's waren voor mens en milieu, mede omdat de vaccinstam niet repliceert in zoogdieren.

4. Overweging

Bij de introductie in het milieu van ggo's zijn voor de milieurisico-analyse verschillende aspecten van belang zoals de moleculaire karakterisering, de pathogeniteit, uitscheiding door de gastheer en de eventuele overleving en verspreiding van het ggo in het milieu. De van belang zijnde milieurisicoaspecten worden hieronder puntsgewijs besproken.

4.1 Moleculaire karakterisering

De COGEM acht het van belang dat een recombinant virus in voldoende detail moleculair is gekarakteriseerd. Op deze manier kan worden vastgesteld of de geïntroduceerde eigenschappen op een correcte wijze en op de goede plaats in het genoom zijn ingebracht.²²

De aanvrager heeft een schematische weergave van de virale vaccinstam aangeleverd waarin de opbouw van het insert en de insertielocus in het genoom van FC-126 wordt aangegeven. De aanvrager heeft door middel van Southern blot analyse aangetoond dat er geen onbedoelde sequenties van de homologievector aanwezig zijn in de virale vaccinstam en dat er één kopie van het insert in de goede oriëntatie aanwezig is.

De aanvrager geeft aan dat het insert is geïnsereerd in het 'open reading frame' (ORF) US2 (MeHV-1 ORF088) waarvan de functie onbekend is. In een eerdere studie is aangetoond dat een insertie in dit gen geen invloed heeft op de replicatie van het virus.²³ De aanvrager heeft sequentie-analyse uitgevoerd op het insert en 400 bp rondom het insert. Hieruit bleek dat er één basepaar veranderd is. Deze verandering heeft geen invloed op de aminozuurvolgorde. Omdat de recombinatiesequenties niet tot in het ouderorganisme zijn bepaald, wijst de COGEM erop dat niet

uit te sluiten is dat tijdens de homologe recombinatie kleine veranderingen zijn opgetreden in de virale vaccinstam. In een eerder advies heeft zij vastgelegd aan welke eisen de moleculaire karakterisering moet voldoen.²² In dat advies wordt gesteld dat de insertie volledig gesequenced dient te worden. Deze sequentieanalyse dient het insert met eventueel gebruikte recombinatiesequenties te omvatten en dient aan weerszijden van het insert enkele tientallen nucleotiden door te lopen in het genoom van het ouderorganisme.

De aanvrager stelt dat tijdens de constructie van de twee expressiecassettes in US2 er behalve VP2 en F twee nieuwe ORFs ontstaan zijn. Aan de 5' kant ontstaat een fusie-ORF van 373 nucleotiden die 150 nucleotiden van het insert bevat. Aan de 3' kant ontstaat een ORF van 348 nucleotiden dat een verkort eiwit van US2 zou kunnen produceren. De aanvrager stelt dat als deze ORFs tot expressie komen de geproduceerde eiwitten waarschijnlijk niet functioneel zijn.

De genetische stabiliteit van HVT-ND-IBD is getest door de stam vijf keer in celweek te passeren. De COGEM is van mening dat voldoende is aangetoond dat het vaccin stabiel is tot en met passage vijf.

4.2 Biologische eigenschappen

In een veiligheidsstudie werden kippenembryo's in het ei gevaccineerd met FC-126 of HVT-ND-IBD. Wekelijks werden het bloed, de milt, de bursa, de trachea en de veren van een aantal dieren onderzocht op de aanwezigheid van virus. De virusproductie in de veren was lager voor HVT-ND-IBD vergeleken met FC-126. Er werd geen virus aangetroffen in de trachea. De aanvrager stelt dat de biologische eigenschappen van HVT-ND-IBD in vergelijking met de apathoge 'backbone' vaccinstam FC-126, met uitzondering van een verminderde virusproductie in de veren, niet veranderd zijn. Uit het onderzoek concludeert hij dat het weefseltropisme en het gastheerbereik voor HVT-ND-IBD ongewijzigd zijn in vergelijking met FC-126.

In een andere nog lopende veiligheidsstudie werden 2205 kippen subcutaan gevaccineerd met HVT-ND-IBD. De studie toonde geen verschillen in ziekte, overlijden, voedselinnamen en gewicht tussen de HVT-ND-IBD gevaccineerde kippen en de controlegroepen tot 21 dagen na vaccinatie.

De COGEM is van mening dat het tropisme van HVT-ND-IBD niet goed is vastgesteld. Er is immers alleen gekeken naar de aanwezigheid van virus in weefsels waarvan bekend is dat er replicatie plaatsvindt na een MeHV-1 besmetting. De COGEM is van mening dat resultaten in andere weefsels meer inzicht bieden in mogelijke tropisieveranderingen. De COGEM wijst erop dat hiervoor ook andere studies ter ondersteuning kunnen dienen, zoals een studie met een MeHV-1 vaccin dat F van NDV bevat en een studie met een MeHV-1 vaccin dat VP2 van IBDV bevat.

4.3 Recombinatie

Hat vaccin wordt geproduceerd door kippenembryofibroblasten te infecteren met de virale vaccinstam. De aanvrager geeft aan dat de kippenembryo's zijn geproduceerd door SPF kippen die

regelmatig getest worden op de aanwezigheid van verschillende kippenvirussen, waaronder IBDV, GaHV-2 en NDV. De aanvrager stelt dat zodoende recombinitie van deze virussen niet kan plaatsvinden. De aanvrager beschrijft in de aanvraag een aantal theoretische situaties die zouden kunnen optreden wanneer HVT-ND-IBD zou recombineren na vaccinatie van de kippen. Hieruit volgt dat er geen aanwijzingen zijn voor recombinitie.

Onder experimentele condities kan recombinitie van herpesvirussen voorkomen. In de wetenschappelijke literatuur is een recombinitie beschreven tussen twee geattenuerde herpesvirusvaccins tegen het pathogene herpesvirus *Gallid herpesvirus 1* dat behoort tot het genus *Iltovirus*. De recombinant veroorzaakte een verhoogde mortaliteit onder kippen in Australië.²⁴ De COGEM merkt op dat vaccins gebaseerd op MeHV-1 al meer dan 30 jaar in de praktijk toegepast worden en dat het virus apathogeen is. Er zijn bij de COGEM geen rapportages bekend over het optreden van recombinitie van dit type vaccins met wildtype virussen. Op basis hiervan concludeert de COGEM dat het risico op recombinitie verwaarloosbaar klein is.

4.4 Uitscheiding, overleving en verspreiding in het milieu

MeHV-1 wordt veelvuldig gebruikt als kippenvaccin tegen MD en kan repliceren in de kip. Het virus verspreidt zich niet onder de kippenpopulatie omdat uitscheiding van het virus via veerfollikels, verspreiding via huidschilfers en mest, en besmetting via de luchtwegen (de normale besmettingsroute bij de natuurlijke gastheer de kalkoen) nauwelijks plaatsvindt. De aanvrager laat zien dat de virusreproductie van het recombinante vaccin in de veerfollikels lager is dan van MeHV-1. De aanvrager concludeert ook dat het gastheerbereik niet gewijzigd is.

De COGEM merkt op dat de experimenten die de aanvrager heeft uitgevoerd niet tot de conclusie leiden dat het weefseltropisme of het gastheertropisme gelijk is gebleven. Gezien de aard van MeHV-1 is de COGEM van mening dat het aannemelijk is dat het weefseltropisme niet veranderd is.

De aanvrager geeft aan dat het afvalwater dat gebruikt is tijdens het desinfecteren van de dierverblijven uitgereden kan worden over het land dat behoort tot het vergunningsgebied en dat er in een straal van 5 kilometer geen kalkoenenboerderijen zijn gevestigd. Kalkoenen zijn de belangrijkste gastheer van het virus waarvan HVT-ND-IBD is afgeleid. Aangezien er geen kalkoenen in de omgeving aanwezig zijn, is de COGEM van mening dat het risico op verspreiding van het gg-virus via deze route verwaarloosbaar klein is.

5. Conclusie

De COGEM verwacht dat de risico's voor mens en milieu bij deze veldstudie met HVT-ND-IBD verwaarloosbaar klein zijn, onder de voorgenomen managementmaatregelen. In het dossier ontbreken echter gegevens over de moleculaire karakterisering en het tropisme van het virus.

In de moleculaire karakterisering ontbreekt de uitwerking van de overgangssequenties tussen het ouderorganisme en het insert met de expressiecassettes. Wat betreft de ontbrekende gegevens over

het tropisme, acht de COGEM het aanleveren van gegevens over het tropisme van verwanten vaccinvirussen voldoende.

De COGEM acht aanlevering van deze aanvullende informatie betreffende de moleculaire karakterisering en het tropisme noodzakelijk om tot een eindoordeel te kunnen komen.

6. Referenties

1. Pellett PE *et al.* (2012). Family Herpesviridae. 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
2. Trapp S & Osterrieder N (2008). Herpesviruses of birds. In: *Encyclopedia of Viruses*. Elsevier Academic Press
3. Osterrieder N *et al.* 2006. Marek's disease virus: from miasma to model. *Nature reviews, Microbiology*, 4: 283-294
4. Schat KA & Nair V (2008). Neoplastic diseases: Marek's disease. In: *Disease of poultry*. 12th ed. Saif, Blackwell publishing, Oxford
5. Hlozanek I & Sovova V (1974). Lack of pathogenicity of Marek's disease herpesvirus and herpesvirus of Turkeys for mammalian hosts and mammalian cell cultures. *Folia Biol.* 20: 51-58
6. Sharma JM *et al.* (1972). Lack of pathogenicity of Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys in marmoset monkeys. *J. Natl. Cancer Instit.* 49: 1191-1197
7. Wang LF *et al.* (2012). Family Paramyxoviridae. 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
8. Office International des Epizooties (OIE) (2013). Newcastle Disease aetiology, epidemiology, diagnosis, prevention and control references.
[www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal Health in the World/docs/pdf/Disease cards/NEWCASTLE_DISEASE.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/NEWCASTLE_DISEASE.pdf) (bezocht: 25 november 2015)
9. Nelson CB *et al.* (1952). An outbreak of conjunctivitis due to Newcastle disease virus (NDV) occurring in poultry workers. *Am. J. Public Health Nations Health* 42: 672-678
10. Delmas B *et al.* (2012). Family Birnaviridae. 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
11. Barnes HJ *et al.* (1982). Serologic evidence of infectious bursal disease virus infection in Iowa turkeys. *Avian Dis.* 26: 560-565
12. Kibenge FSB *et al.* (1988). Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *J. Gen. Virol.* 69: 1757-1775
13. Liu H *et al.* (2010). Comparison of the expression of cytokine genes in the bursal tissues of the chickens following challenge with infectious bursal disease viruses of varying virulence. *J. Virol.* 7: 360-364
14. Pedersen KA *et al.* (1990). Antibodies to avian viruses in humans. *Epidemiol. Infect.* 104: 519-525
15. IG98-085. Dierspecifieke pox- en herpesvirussen als vectorsysteem voor de ontwikkeling van veterinair vaccins

16. COGEM (2012). Introductie in het milieu van een recombinant herpesvirusvaccin tegen laryngotracheitis en de ziekte van Marek. COGEM advies CGM/120611-01
17. COGEM (2012). Aanvullende informatie Innovax ILT en MD. COGEM advies CGM/120718-01
18. COGEM (2012). Moleculaire karakterisering Innovax. COGEM advies CGM/121024-01
19. COGEM (2002). Veldproeven in het kader van een diergeneeskundig onderzoek naar de veiligheid en effectiviteit van een gecombineerd vaccin tegen pseudovogelpest, dat zal worden toegepast op slachtkuikens van kippen. COGEM advies CGM/020318-04
20. COGEM (2002). Reactie op bedenkingen tegen een veldproef met een vaccin tegen pseudovogelpest. COGEM advies CGM/030318-03
21. COGEM (2012). Ingeperkt gebruik van herpesvirusvaccins in lama's. COGEM advies CGM/120207-02
22. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor toepassing in klinische of veterinaire studies. COGEM advies CGM/130227-05
23. Gao H *et al.* (2011). Expression of HA of HPAI H5N1 virus at US2 gene insertion site of turkey herpesvirus induced better protection than that at US10 gene insertion site. *PLoS One*. 6: e22549
24. Lee SW *et al.* (2012). Attenuated vaccines can recombine to form virulent field viruses. *Science* 337: 188