

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

DATUM 23 november 2016
KENMERK CGM/161123-01
ONDERWERP Advies 'Inschaling *in vivo* werkzaamheden met genetisch gemodificeerd Canine parvovirus'

Geachte mevrouw Dijkma,

Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende de vergunningaanvraag IG 16-264_IIv-000 getiteld "Dierstudies met Canine Parvovirus mutanten" ingediend door Intervet International B.V., deelt de COGEM u het volgende mee.


Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over werkzaamheden met genetisch gemodificeerd (gg-) Canine parvovirus (CPV).

CPV veroorzaakt acute en soms fatale darmontsteking bij jonge honden. De symptomen van deze ziekte bestaan uit braken, slijmerige of bloederige diarree en gewichtsverlies. Een infectie van volwassen honden verloopt in de meeste gevallen zonder symptomen. Verspreiding van het virus onder honden vindt hoofdzakelijk plaats via gecontamineerde feces, aarde en gebruiksvoorwerpen.

De aanvrager wil honden onderhuids vaccineren met een verzwakte gg-CPV stam, gg-CPV 630att, gevolgd door toediening via de neus of mond van een wildtype CPV veldstam.

Op basis van resultaten met vaccinproeven met gg-CPV 630att in jonge Beagles, het gastheerbereik van het virus en het feit dat CPV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, adviseert de COGEM de voorgenomen werkzaamheden op DM-II inperkingsniveau in te schalen en daarbij enkele aanvullende voorschriften te hanteren. Op dit inperkingsniveau en onder navolging van de voorgestelde aanvullende voorschriften, acht de COGEM de risico's voor mens in milieu van de voorgenomen werkzaamheden verwaarloosbaar klein.



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 belangenverstrengelingen is het COGEM lid prof. dr. T. Boekhout niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.

Advies inschaling *in vivo* werkzaamheden met genetisch gemodificeerd Canine parvovirus

COGEM advies CGM/161123-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vergunningaanvraag getiteld 'Dierstudies met Canine Parvovirus mutanten' (IG 16-264) ingediend door Intervet International B.V.

De vergunningaanvraag omvat subcutane vaccinatie van honden met genetisch gemodificeerd Canine parvovirus CPV-N (CPV) gevolgd door orale of intranasale 'challenging' met een wildtype CPV veldstam.

2. Canine parvovirus

Tot voor kort was het Canine parvovirus CPV-N (CPV) ingedeeld binnen de familie *Parvoviridae* en binnen het genus *Parvovirus* tot de soort *Feline Panleukopenia virus*. In de meest recente 'International Committee on Taxonomy of Viruses' (ICTV) lijst is het CPV echter ondergebracht in het genus *Protoparvovirus* en de soort *Carnivore protoparvovirus 1*.¹ Naast CPV behoren ook het Feline parvovirus FVP-3, Mink enteritis virus Abashiri en Raccoon parvovirus 118-A tot deze soort.

De oorspronkelijke CPV virusstam, aangeduid als CPV-2, werd in 1978 ontdekt als ziekteverwekker bij honden. Waarschijnlijk is deze stam ontstaan vanuit het Feline panleukopenia virus dat katten infecteert. De sprong van de kat naar de hond als gastheer is vermoedelijk verlopen via tussenliggende passages in wilde carnivoren.^{2,3} Inmiddels zijn drie antigene varianten van CPV-2 ontdekt (CPV-2a, CPV-2b en CPV-2c) die zich wereldwijd hebben verspreid. De varianten zijn pathogener dan CPV-2. Ze kunnen, in tegenstelling tot de CPV-2 stam, tevens katten infecteren.^{3,6} Er zijn in de literatuur geen gegevens bekend die er op wijzen dat CPV pathogeen is voor de mens.

CPV veroorzaakt acute en soms fatale darmontsteking (enteritis) bij puppies. De infectie van volwassen honden verloopt in de meeste gevallen asymptomatisch. De hevigheid van de ziekte is afhankelijk van de hoeveelheid maternale antistoffen tegen het virus op het moment van infectie. In puppies die geen maternale antistoffen hebben kan het virus ook een fatale ontsteking van de hartspier (myocarditis) veroorzaken. Het virus begint met infectie van het lymfweefsel en het darmepitheel (in de crypten) waarna het zich verder kan verspreiden door het gehele lichaam. De klinische symptomen van enteritis treden op na een incubatietijd van enkele dagen en bestaan uit braken, koorts, dehydratie, slijmerige of bloederige diarree en gewichtsverlies. Het virus wordt uitgescheiden via de feces en verspreidt zich onder honden hoofdzakelijk via gecontamineerde feces, aarde en gebruiksvoorwerpen. CPV is bestand tegen veranderingen in zuurgraad en temperatuur en kan maandenlang in het milieu overleven.^{2,3,6}

In Nederland en andere landen worden puppies doorgaans gevaccineerd tegen CPV infecties. De vaccins, bestaande uit levend geattenuerde CPV-2 of CPV-2b virusstammen, worden meestal in de eerste twaalf weken aan de honden toegediend.^{3,4,6} Hoewel de vaccins bescherming bieden tegen infectie en ziekte, kan de immunisatie soms ontoereikend zijn door aanwezigheid van een hoge concentratie aan maternale antistoffen.^{5,6}

2.1 Genomische organisatie van CPV

Het genoom van CPV bestaat uit een lineair, enkelstrengs DNA molecuul van ongeveer 5000 basenparen. Aan beide uiteinden van het genoom bevinden zich palindromische sequenties van 100 tot 300 nucleotiden die een 'hairpin'-structuur vormen. Het genoom codeert voor twee niet-structurele eiwitten (NS1 en NS2) en twee structurele eiwitten (VP1 en VP2). In de gastheer wordt nog een derde structureel eiwit gevormd door splitsing van VP2 met behulp van gastheerproteasen.³ Bijna 90% van het virusdeeltje bestaat uit VP2, waardoor dit eiwit in grote mate bepalend is voor het gastheerbereik van het virus en de interacties met de gastheer.^{3,6}

3. Voorgenomen werkzaamheden

De aanvrager wil 'specific pathogen free' (SPF) honden die vrij zijn van CPV, subcutaan vaccineren met een geattenuerde gg-CPV stam, gg-CPV 630att. Vervolgens wil de aanvrager de honden oraal of intranasaal 'challengen' met een wildtype CPV veldstam. Aan het eind van de studie vindt analyse van cellen en weefsels van de honden plaats.

De aanvrager beschikt over een vergunning voor de genoemde dierexperimenten op DM-III niveau en verzoekt de werkzaamheden uit te mogen voeren op DM-II niveau.

4. Eerder COGEM advies

In 2012 heeft de COGEM geadviseerd over de classificatie van CPV en de inschaling van werkzaamheden met gg-CPV 630att.⁶ Mede op basis van de pathogeniteit in honden, de aanwezigheid van commerciële vaccins en het feit dat er geen aanwijzingen zijn voor pathogeniteit in mensen, adviseerde zij dit virus als een klasse 2 dierpathogeen aan te merken.⁶

De gg-CPV 630att stam is samengesteld uit het manteleiwitgen van een virulent veldisolaat van CPV-2c en de geattenuerde backbone van vaccinstam CPV 154att. In gg-CPV 630att zijn mutaties aangebracht in het VP2 manteleiwitgen van het CPV-2c veldisolaat. De gg-CPV 630att stam is veilig gebleken als vaccin in Beagle pups afkomstig van ongevaccineerde moeders. Op basis van deze gegevens achtte de COGEM het aannemelijk dat deze stam geattenuerd is ten opzichte van wildtype CPV.⁶

Op grond van haar oordeel over de pathogeniteit van CPV en gg-CPV-630att stemde de COGEM in met de door de aanvrager voorgestelde inschaling van de werkzaamheden met gg-CPV 630att op ML-II inperkingsniveau. Gezien de mogelijkheid tot verspreiding van CPV via gebruiksvorwerpen adviseerde de COGEM daarbij wel om open handelingen in een veiligheidskabinet uit te voeren en tijdens de werkzaamheden handschoenen te dragen.⁶

In 2016 heeft de COGEM ook geadviseerd over de grootschalige kweek van gg-CPV 630att in een single user bioreactor (SUB).⁷ De aanvrager verzocht de productie van gg-CPV 630att op MI-III uit te mogen voeren. Gezien de aard van het genetisch gemodificeerde organisme (ggo) achtte de COGEM de kans verwaarloosbaar klein dat het gg-CPV 630att zich zou verspreiden als er onverhoopt een lekkage zou optreden. Zij was daarom van mening dat de SUB veilig onder de voorgestelde MI-III condities gebruikt kon worden voor de productie van gg-CPV 630att.⁷

5. Overwegingen en advies

De aanvrager wil SPF honden subcutaan vaccineren met gg-CPV 630att. Dit is een levende geattenuerde vaccinstam die bestaat uit de geattenuerde backbone van vaccinstam CPV 154att met het gemuteerde VP2 manteleiwitgen van een CPV-2c veldisolaat.

Op basis van resultaten met vaccinproeven met gg-CPV 630att in jonge Beagles, het gastheerbereik van het virus en het feit dat CPV is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2, is de COGEM van mening dat de voorgenomen werkzaamheden op DM-II inperkingsniveau uitgevoerd kunnen worden.

Het subcutaan vaccineren van honden met gg-CPV 630att kan leiden tot 'shedding' van het vaccivirus in de feces van de gevaccineerde honden. Gezien de mogelijke verspreiding van het virus naar het milieu acht de COGEM de aanvullende voorschriften noodzakelijk:

- Tijdens de werkzaamheden worden handschoenen gedragen;
- Tijdens de werkzaamheden wordt apart schoeisel gedragen dat in de werkruimte wordt achtergelaten;
- Al het afval (handschoenen, etc.) en feces moet binnen de ingeperkte ruimte worden opgeslagen in eenmalig te sluiten, breukvaste, lekdichte containers waarna het geïnactiveerd wordt;
- Na afloop van de werkzaamheden wordt de werkruimte via gevalideerde methodes ontsmet.

Na vaccinatie met gg-CPV 630att is de aanvrager van plan om de SPF honden oraal of intrasaaal te 'challengen' met een CPV veldstam. Hierbij kan recombinatie optreden tussen gg-CPV 630att en wildtype CPV, waarbij een wildtype virus met één of meerdere attenuerende mutaties kan ontstaan. De COGEM is daarom van mening dat dit niet zal leiden tot een recombinant CPV virus met een hogere virulentie dan gg-CPV 630att of wildtype CPV. Daarom adviseert zij deze werkzaamheden uit te voeren op DM-II niveau met inachtneming van de eerder genoemde aanvullende voorschriften.

6. Conclusie

Indien de voorgenomen werkzaamheden op de geadviseerde inperkingsniveaus en onder navolging van de genoemde aanvullende voorschriften worden uitgevoerd, is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu van de voorgenomen experimenten verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses. <http://ictvonline.org/> (bezoekt 18 november 2016)

2. Goddard A & Leisewitz AL (2010). Canine parvovirus. *Vet. Clin. North Am. Small. Anim. Pract.* 40: 1041-1053
3. Decaro N & Buonavoglia C (2012). Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet. Microbiol.* 155: 1-12
4. Truyen U (2006). Evolution of canine parvovirus- a need for new vaccines? *Vet Microbiol.* 117: 9-13
5. Decaro N *et al.* (2008). Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiol.* 31:125-130
6. COGEM (2012). Advies classificatie van Canine parvovirus. COGEM advies CGM/120115-01
7. COGEM (2016). Advies grootschalige productie van genetisch gemodificeerd Canine parvovirus in een Single-Use bioreactor. COGEM advies CGM/160607-01