

Advies betreffende: **Deletiemutanten van het aviair polyomavirus (APV) als vaccin tegen ziektes veroorzaakt door dit virus**

Kennisgever: **Intervet International B.V.**

COGEM kenmerk
CGM/010413-03

BGGO nummer
GGO 01-015

Datum advies
13 april 2001

Beschrijving van het experiment

De aanvrager wil deletiemutanten van het aviair polyomavirus (APV) als vaccin in kippen testen op veiligheid en effectiviteit tegen ziektes veroorzaakt door APV besmetting. De werkzaamheden bestaan uit vaccinatie via verschillende toedienings-routes (intramusculair, oraal, oculair) van (SPF) kippen, challenge met wild-type virus en klinische observatie na vaccinatie en challenge. De experimentele handelingen bestaan onder meer uit pathologisch-histologisch onderzoek, virus-reïsolatie en het bepalen van de serologische respons tegen APV.

Inleiding

Het avian polyomavirus (APV) is een niet-membraanbevattend, dubbel-strengs DNA virus dat oorspronkelijk werd geïsoleerd uit jonge grasparkieten (BFDV; budgerigar fledling disease virus). APV veroorzaakt bij laatstgenoemde dieren een acute fatale besmettelijke ziekte met een mortaliteit van 100 %. APV infecties kunnen ook bij andere vogelsoorten zoals hoenderachtigen, papagaaien, valken en vinken tot ziekte en dood leiden. Het circulaire genoom DNA van APV wordt in twee richtingen getranscribeerd voor expressie van vroege en late genen. Belangrijke verschillen tussen APV en "mammalian" polyomavirussen (e.g. SV40) zijn waargenomen in de niet-coderende regulatoire regio's, de regio die codeert voor het large tumour (T) antigeen en in de samenstelling en expressie van agnoproteïnen. Expressie van agnoproteïne 1a (agno-1a) en agnoproteïne 1b (agno-1b) is uniek voor APV. Deze eiwitten worden als enige agnoproteïnen van APV in met APV-geïnfecteerde cellen waargenomen. De exacte functie van deze eiwitten is niet bekend. Er bestaan aanwijzingen dat genoemde eiwitten van belang zijn voor de replicatie van het virus en inductie van apoptose in APV-geïnfecteerde cellen. De aanvrager geeft aan dat mutant APV dat geen agno-1a en agno-1b tot expressie brengt in *in vitro* cultures leidt tot abrogatie van de productie van nieuwe virusdeeltjes (Johnes *et al.*, 2000, p. 1187)¹; dit is gebaseerd op de afwezigheid van APV-specifieke eiwitten in met APV-bevattend supernatant (afkomstig van met (mutant) APV-geïnfecteerde CE

¹ Johnes *et al.*, Journal of General Virology (2000), 81, 1183-1190

cellen) geïnfecteerde verse CE cellen. De aanvrager maakt gebruik van het wild-type APV en een tweetal mutanten die respectievelijk een deletie in het agno-1a en agno-1b gebied bevatten. De virussen zijn afkomstig en vervaardigd in het Instituut voor Virologie van de Universiteit Leipzig, Duitsland. De aanvrager wil de verkregen viruspreparaten opkweken en vervolgens hiervan vaccinformaties vervaardigen. Deze preparaten zullen vervolgens worden gebruikt in immunisatie en challenge experimenten in kippen. De aanvrager geeft aan dat elk van deze te gebruiken virus mutanten t.g.v. de aangebrachte mutaties in *in vitro* celkweek verminderd repliceren en daardoor vermindert virulent c.q. pathogeen zullen zijn. De aanvrager levert hiervoor geen experimentele gegevens ter onderbouwing.

Overweging en Inschaling

APV is een dierpathogeen (klasse 2) met een beperkt gastheerspectrum. Er zijn geen aanwijzingen dat APV pathogeen is voor de mens, en de verwachting is dat de door de aanvrager beschreven deleties mogelijk de pathogeniteit voor vogels kunnen verlagen. In het algemeen verwacht de COGEM dat de werkzaamheden met het niet gemodificeerde virus een groter risico inhouden dan die met de door de aanvrager beschreven deletiemutanten van het betreffende virus.

Met betrekking tot de transfectie van zoogdiercellen voor de productie van genetisch gemodificeerde viruspartikels adviseert de COGEM conform de Regeling² de werkzaamheden met dergelijke pathogenen in te schalen op C-I niveau (Bijlage 4 onder 4.1.1.3.).

Wanneer experimenten met dieren in associatie met genetisch gemodificeerde virussen worden uitgevoerd acht de COGEM het van belang de dieren te huisvesten in een onderdruk isolator welke wordt geplaatst D-II verblijf (Regeling², Bijlage 4 onder 4.1.4.2). Aanvullend dienen alle materialen die in aanraking zijn geweest met het genetisch gemodificeerde micro-organismen middels een gevalideerde methode gesteriliseerd of ontsmet te worden.

Handelingen met bloed, cellen en weefsels van met het GGO gevaccineerde dieren dienen op C-I niveau (Regeling, Bijlage 4 onder 4.1.1.3.) uitgevoerd te worden.

Uiteindelijk worden de dieren in een isolator gedood en vervolgens in een plastic zak verpakt voordat de dieren de isolator verlaten. De in plastic zakken verpakte dieren dienen vervolgens in een diptank overgebracht te worden waarna ze in afgesloten vaten worden afgevoerd en vernietigd worden.

² Regeling Genetisch Gemodificeerde Organismen en richtlijnen van de COGEM bij deze regeling (1998)