

Advies betreffende: **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**

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

COGEM kenmerk
CGM/020318-04

BGGO nummer
BGGO 00/08

Datum advies
18 maart 2002

Samenvatting

De aanvraag betreft de in ovo (in het ei) toediening aan kippenembryo's van een stam van Herpesvirus bij kalkoenen ('Herpesvirus of turkey,' HVT) waarin een gen is gebracht van het Newcastle disease virus (NDV); daarnaast wordt een conventioneel, niet-genetisch gemodificeerde vaccin toegediend, de NDV stam C2, die reeds wordt gebruikt in kippen als vaccin tegen pseudovogelpest. De dieren worden gehouden onder de omstandigheden zoals dat voor slachtkuikens gebruikelijk is. Gedurende die periode wordt het effect van de vaccinatie onderzocht. Een aantal dieren wordt gebruikt voor het uitvoeren van besmettingsexperimenten; deze dieren worden na afloop van het experiment gedood; de kadavers worden geïnactiveerd. Na afloop van een experiment worden de dieren die niet voor verdere proeven worden gebruikt geslacht; de kadavers worden gedestruëerd.

De commissie is van mening dat het experiment, indien uitgevoerd onder de omstandigheden zoals die door de aanvrager worden beschreven, geen risico's oplevert voor mens en milieu.

Doel van het onderzoek

Doel van het onderzoek is om na te gaan of een behandeling van slachtkuikens met twee vaccins gericht tegen NDV, waarvan één een genetisch gemodificeerd HVT is, leidt tot een verbeterde immuniteit van de dieren tegen NDV, zonder dat dat gepaard gaat met nadelige gevolgen voor de geïmmuniseerde dieren.

Aspecten van de gastheer, Herpesvirus bij kalkoenen(HVT)

HVT komt wijd verbreid voor als virus bij kalkoenen. Het virus wordt niet in verband gebracht met enige ziekte in kalkoenen en wordt daarom als niet pathogeen beschouwd. Het wordt wereldwijd gebruikt als vaccinvirus tegen de ziekte van Marek.

De ziekte van Marek wordt veroorzaakt door Marek's disease virus (MDV), een virus dat verwant is aan HVT. HVT wordt niet in verband gebracht met enige ziekte bij de kip. Inenting van kippen met HVT leidt dan ook niet tot nadelige gevolgen.

Na inenting van een kip met HVT blijft het virus levenslang in latente vorm aanwezig. Het virus is in zijn latente vorm alleen stabiel zolang de cel waarin het zich bevindt intact blijft; als de cel doodgaat wordt ook het virus geïnactiveerd en kan het niet meer uit de cellen worden opgekweekt.

Indien de dieren worden geënt met grote hoeveelheden van het virus wordt het virus in een celvrije vorm uitgescheiden, via veerfollikels (veerstof). Langs deze weg kan er verspreiding naar andere kippen plaatsvinden. Onder natuurlijke omstandigheden wordt echter alleen overdracht van het virus waargenomen van geïnfecteerde kalkoenen naar andere kalkoenen; overdracht naar andere vogelsoorten wordt niet waargenomen.

HVT wordt sinds 1970 wereldwijd gebruikt als vaccin. Er zijn geen aanwijzingen gevonden dat het virus zich kan verspreiden naar zoogdieren, inclusief de mens. Onder laboratoriumomstandigheden is men er niet in geslaagd om cellijnen afkomstig van zoogdieren of van de mens te infecteren met HVT.

Op basis van analogie met MDV kan worden aangenomen dat HVT in zijn celvrije vorm wordt geïnactiveerd met de desinfectantia (bijvoorbeeld formaldehyde) die in de praktijk worden toegepast nadat gevaccineerde dieren van een pluimveebedrijf zijn afgevoerd.

Eigenschappen van het genetisch gemodificeerde organisme (ggo), HVT-NDV/F
HVT is goed bruikbaar als uitgangsorganisme voor de productie van levende, replicatiecompetente virale vaccins. In dit onderzoek wordt een stam van HVT als vector gebruikt die als vaccinstam bij kippen wordt toegepast (Nobilis Marek THV Iyo).

De vaccinstam HVT-NDV/F is ontstaan door het F gen van de NDV vaccinstam Clone 30, onder controle van de LTR promotor van Rous sarcoma virus, te cloneren in een intergeen gebied van Nobilis Marek THV Iyo. Het F-gen is afkomstig van de NDV Clone 30, die wereldwijd als vaccinstam wordt gebruikt.

Het F-genproduct is betrokken bij de fusie van de virus envelop met de celmembraan van de gastheer tijdens infectie. Expressie van het F-gen zal kunnen leiden tot de vorming van antilichamen tegen het F-genproduct.

De aanwezigheid van de promotor van het Rous sarcoma virus leidt tot continue hoge expressie van het gecloneerde F-gen van NDV; de promotor bewerkstelligt geen van de effecten van het Rous sarcoma virus.

De omstandigheden van de introductie in het milieu: de opzet van de studie

De studie wordt uitgevoerd op maximaal 5 groepen van maximaal 25.000 kippenkuikens. De vaccinatie met HVT-NDV/F vindt plaats in ovo, dat wil zeggen door injectie in kippenembryo's, in het ei. Deze vaccinatie wordt volautomatisch uitgevoerd, met daarvoor ontworpen apparatuur; voor, na en tijdens de procedure vindt desinfectie plaats van de apparatuur.

De dieren worden als eendagskuikens vervoerd naar het pluimveebedrijf, waar zij worden ingeënt met een vaccinstam van NDV, C2, die als spray wordt toegediend. De kuikens ontvangen verder een standaard vaccinatieprogramma, uitgezonderd dat de eerste herhalingsvaccinatie pas na 10 dagen plaatsvindt, en dat geen andere vaccinatiestammen dan C2 worden gebruikt.

Na de toediening worden de dieren gehouden in een afgesloten stal. Er worden voorzorgen genomen tegen verspreiding van het vaccin: desinfectie van schoeisel en kledingwisseling bij het verlaten van het gebouw. Deze maatregelen zijn voldoende om

verspreiding van het ggo vanuit het pluimveebedrijf te voorkomen. Het is bekend dat HVT alleen vrij komt uit dieren die ermee besmet zijn via de veerfollikels; de stam is niet aantoonbaar in uitwerpselen. Er kan ook geen overdracht plaatsvinden naar andere dieren binnen het bedrijf: gedurende het verblijf op het pluimveebedrijf zijn daar geen andere kippen, of andere dieren waarnaar de besmetting met HVT zich zou kunnen uitbreiden, aanwezig. De aanvrager heeft bovendien gegevens verstrekt waaruit blijkt dat overdracht onder praktijkomstandigheden zelfs niet plaatsvindt als geïnfecteerde en niet-geïnfecteerde kippen zich naast elkaar in dezelfde ruimte bevinden.

Gedurende de opfokperiode vindt er regelmatige observatie plaats van de ingeente dieren. Daarbij wordt gecontroleerd of de toediening van de vaccins nadelige effecten heeft. Van een aantal dieren worden bloedmonsters genomen voor serologisch onderzoek; de monsters worden daartoe vervoerd naar laboratoria van de aanvrager. Een aantal dieren wordt vervoerd naar een dierverblijf van de aanvrager, voor het uitvoeren van besmettingsexperimenten om de effectiviteit van het vaccin te bepalen. Dat houdt in dat de dieren worden besmet met NDV, waarna wordt bekeken in hoeverre de dieren resistent zijn tegen deze besmetting. De overige dieren worden na afloop van het experiment vervoerd naar een slachterij, waar zij worden geslacht; de geslachte dieren worden gedestruëerd. De stal wordt met routinemethodes gedesinfecteerd. De mest wordt over het land verspreid.

Interactie van HVT-NDV/F met NDV

Aangezien de dieren tevens geënt worden met de NDV vaccinstam C2, is het a priori niet uitgesloten dat de stammen HVT-NDV/F en NDV C2 elkaar in cellen in het dier 'tegenkomen'. De aanvrager is in aanvullende informatie ingegaan op de gevolgen van een dergelijke ontmoeting. Gelijktijdige infectie van een cel met beide virussen wordt door de aanvrager niet volledig uitgesloten: er bestaat een kans op gelijktijdige infectie omdat in ovo inoculatie leidt tot replicatie van de vector onder andere in trachea en longen, de plaats van toediening van het NDV vaccin, naast de normale aanwezigheid van het virus in lymfocyten. Genetische interactie tussen NDV en de vector is echter niet aannemelijk, omdat het gaat om virussen met volledig verschillende levenscycli: NDV is een RNA virus, met als plaats van replicatie het cytoplasma, HVT een DNA virus, met als plaats van replicatie de celkern.

Mocht er toch interactie plaatsvinden, dan zal die alleen kunnen leiden tot uitwisseling van de F-genen. Er is een correlatie tussen de opbouw van het F-eiwit en de virulentie van NDV stammen: het is gebleken dat de aminozuurvolgorde op één plaats in het F-eiwit direct gerelateerd is aan de mate van virulentie. De aminozuurvolgorde van deze plaatsen in de F-eiwitten in HVT-NDV/F en de NDV stam C2, is identiek. Het NDV virus dat ontstaat door uitwisseling van de F-genen tussen de vaccinstam en het ggo zal daarom geen nadeligere eigenschappen hebben dan de vaccinstam.

Beschouwing en analyse

In de risico-analyse moet worden nagegaan in hoeverre de clonering van het F gen van NDV in HVT kan leiden tot effecten die de veiligheid van mens en milieu nadelig kunnen beïnvloeden.

Met de toepassing van HVT als vaccinstam tegen de ziekte van Marek bij kippen bestaat wereldwijd uitgebreide ervaring; daarbij zijn nooit nadelige effecten waargenomen. De vaccinstam HVT-NDV/F bestaat uit HVT waarin het gen van NDV coderend voor het F-eiwit is gecloneerd in een intergeen gebied, achter de LTR promoter van het Rous sarcoma virus. Expressie van het F-eiwit op zich kan geen ziekteverschijnselen veroorzaken. De aanwezigheid van de promoter van het Rous sarcoma virus beïnvloedt slechts de expressie van het erachter gelegen F-gen; het kan geen ziekteverschijnselen veroorzaken.

Gedurende het experiment zou er in de geïnoculeerde dieren interactie kunnen plaatsvinden van de HVT-NDV/F stam met de NDV vaccinstam die wordt toegediend naast het eerstgenoemde vaccin. Dat zou kunnen leiden tot uitwisseling van (gedeelten van) de F genen. De virulentie van NDV wordt in hoge mate bepaald door het aanwezige F-gen; de F-genen waar het hier om gaat zijn afkomstig van vergelijkbaar laag-virulente stammen. Een eventuele uitwisseling zal daarom niet leiden tot nadelige effecten.

Conclusie

De voorgenomen experimenten leveren geen bijzondere risico's op voor mens en milieu. De aanvrager geeft reeds aan een aantal veiligheidsvoorzorgen te zullen nemen. De commissie adviseert u daaraan een aantal te nemen voorzorgen die in de praktijk gebruikelijk zijn of waarvan kan worden aangenomen dat de aanvrager die zal nemen, expliciet toe te voegen.

Het totale pakket aan te nemen voorzorgsmaatregelen omvat:

- De in ovo vaccinatie moet plaatsvinden met behulp van de speciaal daarvoor ontworpen automatische apparatuur, met inachtnaam van maatregelen voor desinfectie.
- Bij vervoer tussen inrichtingen van dieren die zijn geïnoculeerd met het HVT-NDV/F vaccin moeten voorzorgen worden genomen dat er geen dierlijke producten buiten de vervoerseenheid worden verspreid. Na het vervoer moet de vervoerseenheid worden gereinigd en ontsmet op dezelfde wijze zoals dat gebeurt na het vervoer van dieren die zijn geïnoculeerd met een traditioneel HVT vaccin.
- Huisvesting van en handelingen met geïnoculeerde dieren ten behoeve van besmettingsexperimenten bedoeld om de effectiviteit van de vaccinatie met HVT-NDV/F te onderzoeken, worden uitgevoerd onder omstandigheden die overeenkomen met het D-II niveau.
- De huisvesting van de dieren gedurende de experimenten moet gebeuren volgens het 'all in-all out' principe. Gedurende het experiment moeten standaard hygiënische maatregelen worden genomen, die inhouden dat bij binnenkomst en verlaten van het gebouw kledingwisseling plaatsvindt en het schoeisel wordt gedesinfecteerd; de stal wordt na afloop van een experiment gedesinfecteerd.