

Advies betreffende: **Reactie op bedenkingen tegen een veldproef met een vaccin tegen pseudovogelpest**

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

COGEM kenmerk
CGM/030318-03

BGGO nummer
BGGO 00/08

Datum advies
20 maart 2003

Inleiding

De aanvraag waarvoor reeds een ontwerpbeschikking is afgegeven betreft proeven met slachtkuikens met een vaccin tegen pseudovogelpest. Doel van het onderzoek is om te bepalen of een behandeling van slachtkuikens met twee vaccins gericht tegen *Newcastle disease virus* (NDV) leidt tot een verbeterde immuniteit van de dieren tegen NDV, zonder dat dit gepaard gaat met nadelige effecten op de geïmmuniseerde dieren. Eén van de te gebruiken vaccins is een genetisch gemodificeerd *Herpesvirus* van kalkoenen (HVT) waarin het F-gen is gebracht van het NDV. Het F-genproduct is betrokken bij de fusie van het virus met de celmembraan van de gastheer tijdens infectie. Expressie van het F-gen kan leiden tot de vorming van antilichamen tegen het F-genproduct. Het genetisch gemodificeerde vaccin wordt *in ovo* (in het ei) toegediend aan kippenembryo's. Daarnaast wordt een conventioneel, niet-genetisch gemodificeerde vaccin toegediend, de NDV stam C2, die reeds wordt gebruikt in kippen als vaccin tegen pseudovogelpest. De slachtkuikens worden onder de gebruikelijk omstandigheden gehouden. Gedurende het experiment wordt het effect van de vaccinatie onderzocht. Een aantal dieren wordt gebruikt voor het uitvoeren van besmettingsexperimenten. Na afloop van een experiment worden de dieren geruimd.

De COGEM heeft eerder (CGM/020318-04) geadviseerd dat het experiment, indien uitgevoerd onder de omstandigheden zoals die door de aanvrager worden beschreven, geen risico's oplevert voor mens en milieu. Recent heeft het Ministerie van VROM op de ontwerpbeschikking BGGO 00/08 bedenkingen ontvangen die betrekking hebben op het COGEM advies. De COGEM is verzocht om de aan het COGEM advies gerelateerde vragen te beantwoorden.

Overwegingen en Advies

De ingediende bedenkingen richten zich voornamelijk op het mogelijke gevaar van recombinatie tussen de gebruikte vectoren en andere latente virussen. Daarnaast wordt de veiligheid van het gebruik van de *Rous sarcoma virus* (RSV) promotor in het genetisch gemodificeerde vaccin in twijfel getrokken.

Met betrekking tot de veiligheid van de RSV promotor geeft de indiener van de bedenkingen aan dat Dr. M.W. Ho uit Engeland waarschuwt tegen het gebruik van deze promotor en dat een analyse van dit risico ontbreekt in het COGEM advies. In de bedenkingen wordt dit potentiële risico echter niet gespecificeerd. Dr. Mae-Wan Ho is onder andere verbonden aan het Institute of Science in Society (ISIS). Dit is een organisatie die publiceert over biotechnologie en de gevolgen daarvan ter discussie stelt. Uitgebreid literatuuronderzoek door de COGEM heeft niet geleid tot identificatie van artikelen van Dr. M.W. Ho waarin wordt ingegaan op het gevaar van de toepassing van de RSV promotor. De RSV promotor wordt al gedurende vele jaren in allerlei genconstructen en vectoren gebruikt. Er zijn geen aanwijzingen dat het gebruik van de RSV promotor een hoger risico met zich meebrengt dan het gebruik van een andere promotor.

Voorts wordt volgens de indiener van de bedenkingen in het betreffende COGEM advies gesteld dat “de aanwezigheid van de promotor van het *Rous sarcoma virus* uitsluitend een regulatoire functie heeft: de promotor verzorgt een continue hoge expressie van een gen dat er achter gepositioneerd is: in dit geval het gekloneerde F-gen van NDV; de promotor bewerkstelligt dus geen van de effecten van een infectie met het *Rous sarcoma virus*”. In de bedenkingen wordt betwijfeld of een eventuele recombinatie van deze promotor met latente virussen door de COGEM is overwogen, aangezien dit volgens de indiener tot hele andere resultaten kan leiden. Het is de COGEM niet duidelijk welke andere resultaten door de indiener van de bedenkingen bedoeld worden. Recombinatie is in theorie mogelijk, maar mede gezien het feit dat de insertie zich slechts beperkt tot de promotorsequentie van het *Rous sarcoma virus* en de kans op recombinatie sterk afhankelijk is van de mate van sequentieovereenkomst, acht de COGEM de kans op recombinatie met latente virussen leidende tot nadelige gevolgen verwaarloosbaar klein.

Met betrekking tot de mogelijke recombinatie tussen de gebruikte vectoren trekt de indiener van de bedenkingen de gevolgde redenering van de COGEM in twijfel. “Genetische interactie tussen NDV en de HVT vector is niet aannemelijk, omdat het gaat om virussen met volledige verschillende levenscycli. NDV is een RNA virus, met als plaats van replicatie het cytoplasma. HVT is een DNA virus dat in de celkern repliceert”. In de bedenkingen wordt gesteld dat de huidige kennis niet ver genoeg reikt om op basis van het criterium “aannemelijk” een GGO in het milieu toe te laten. De kans op calamiteiten is zeer klein, maar de potentiële schade is in principe onbeperkt. De COGEM is van mening dat recombinatie theoretisch mogelijk is, maar dat recombinatie in dit verband hoogst onwaarschijnlijk en niet aannemelijk is. Daarbij worden al sedert tientallen jaren miljoenen kuikens bijna gelijktijdig gevaccineerd tegen de ziekte van Marek (MDV) en tegen pseudovogelpest welke een vergelijkbaar systeem is als het onderhavige NDV en HVT. Er zijn nooit negatieve effecten beschreven die het gevolg zouden zijn van genetische interactie tussen de virussen. De COGEM is dan ook van mening dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar zijn.

In het eerdere COGEM advies staat vermeld dat “als er eventueel genetische interactie plaatsvindt, dan zal dat gebeuren op basis van sequentiehomologie tussen het HVT-NDV/F en de NDV vaccinstam. Tussen deze twee stammen bestaat alleen homologie tussen de sequenties die coderen voor de F-eiwitten”. Volgens de indiener van de

bedenkingen is deze uitspraak veel te stellig aangezien homologie de kans op interactie vergroot, maar andere mogelijkheden ook beschouwd moeten worden. In de bedenkingen wordt echter niet aangegeven welke andere mogelijkheden het hier betreft. Voor recombinatie gebeurtenissen geldt dat hoe groter de sequentieovereenkomst is tussen twee sequenties, des te groter de kans op recombinatie is. In een situatie waarin er nauwelijks of geen sequentieovereenkomst is, is de kans op recombinatie bijna nihil. Aangezien de sequentieovereenkomst het grootst is voor de F-genen is de kleine kans op recombinatie volgens de COGEM hier het hoogst. Echter, het NDV virus dat zal ontstaan door uitwisseling van de F-genen tussen de vaccinstam en het GGO zal geen nadeligere eigenschappen hebben dan de vaccinstam.

De COGEM stelt in haar advies dat “op basis van analogie met NDV kan worden aangenomen dat HVT in zijn celvrije vorm wordt geïnactiveerd met de ontsmettingsmiddelen (bijvoorbeeld formaldehyde)”. Volgens de bedenkingen ontbreekt het bewijs van de aannames dat HVT/NDV-F niet zal recombineren in elk van de 125.000 kuikens en wordt er geen bewijs geleverd dat het genetisch gemodificeerde vaccin zich gelijkwaardig gedraagt aan HVT en analoog aan NDV. De COGEM is van mening dat HVT, NDV en eventuele recombinanten allen geïnactiveerd zullen worden door ontsmettingsmiddelen. Desinfectiemiddelen zoals formaldehyde zijn niet specifiek. Formaldehyde reageert met aminogroepen op verschillende aminozuren. Er is geen argument waarom een HVT virus met NDV inserties niet geïnactiveerd zou worden door formaldehyde dat effectief is tegen beide virussen.

In de aanvullende voorzorgsmaatregelen staat volgens de indiener van de bedenkingen een tegenstrijdigheid. Er is vervoer van geïnfecteerde kuikens over de weg en er dient kledingwisseling en desinfectie van het schoeisel plaats te vinden. Aan de ene kant is het ongewenst dat het vaccin zich zou verspreiden, maar anderzijds zou dit geen kwaad kunnen. Een GGO is volgens de indiener van de bedenkingen moeilijk in de hand te houden en het is niet duidelijk wat de calamiteiten zullen zijn. De COGEM stelt dat de kans op calamiteiten goed is overwogen en verwaarloosbaar wordt geacht gezien de biologische inperking van het HVT. Het HVT verspreid zich namelijk niet onder kippen. Om de eventuele kans op eventuele verspreiding verder in te perken zijn bovengenoemde aanvullende voorschriften voor het vervoer voorgeschreven.