



Commissie Genetische Modificatie

Voorzitter: prof.dr.ir. B.C.J. Zoeteman

Aan de Staatssecretaris van
Volkshuisvesting, Ruimtelijke
Ordening en Milieubeheer
De heer drs. P.L.B.A. van Geel
Postbus 30945
2500 GX Den Haag

Uw kenmerk

Uw brief van

Kenmerk

Datum

CGM/040406-02

9 april 2004

Onderwerp

Advies Hergebruik en terugplaatsing proefdieren

Geachte heer Van Geel,

Naar aanleiding van eerdere vragen en COGEM adviezen betreffende hergebruik van proefdieren, terugplaatsing van proefdieren en de productie van transgene dieren in combinatie met virale vectoren heeft de COGEM een algemeen advies opgesteld.

Samenvatting:

De COGEM heeft in het verleden een aantal adviezen uitgebracht over verschillende experimenten met proefdieren. Bij deze experimenten kwamen specifieke situaties aan bod waarbij proefdieren geïnfecteerd met virale vectoren teruggeplaatst werden naar een ander inperkingniveau of hergebruikt werden voor een ander experiment. Tevens heeft de COGEM geadviseerd over de productie van transgene proefdieren en het gebruik van deze dieren. De aanleiding voor dit algemene advies is om een richtsnoer op te stellen voor vergunningaanvragen voor studies met virale vectoren in combinatie met proefdieren.

Gezien de grote diversiteit in de aard van de mogelijke experimenten, met betrekking tot genetisch gemodificeerde proefdieren, is een uitputtende analyse van alle potentiële risico's voor mens en milieu niet realistisch. Derhalve is de COGEM van mening dat voor elke situatie, te weten, hergebruik van proefdieren, terugplaatsing van proefdieren naar een ander inperkingniveau, en productie en het gebruik van transgene proefdieren, een *case-by-case* benadering gevolgd dient te worden, waarbij specifieke aanvullende eisen en voorwaarden gesteld worden. Om de veiligheid voor mens en milieu te waarborgen adviseert de COGEM een "nee, tenzij" beleid voor alle drie de bovengenoemde situaties.

De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'B.C.J. Zoeteman', with a long horizontal flourish extending to the right.

Prof. dr. ir. B.C.J. Zoeteman
Voorzitter COGEM

c.c. Dr. ir. B.P. Loos
Dr. I. van der Leij

Titel: Hergebruik en terugplaatsing van met virale vectoren geïnfekteerde proefdieren

COGEM advies: CGM/040406-02

Inleiding

De COGEM brengt hierbij een algemeen advies uit betreffende studies waarbij met virale vectoren geïnfekteerde proefdieren uit een eerder experiment hergebruikt en/of teruggeplaatst worden naar een ander inperkingsniveau. Tevens adviseert de COGEM over de risico's voor mens en milieu van studies waarbij transgene proefdieren geproduceerd worden. De aanleiding voor dit algemene advies is om een richtsnoer op te stellen voor vergunningaanvragen voor studies met virale vectoren in combinatie met proefdieren.

Onder hergebruik wordt verstaan het opnieuw gebruiken in een experiment van proefdieren die in een voorgaand experiment geïnfecteerd zijn met een recombinante virale vector of een ander genetisch gemodificeerd organisme (ggo). Terugplaatsing betekent het terugzetten van een proefdier dat met een ggo behandeld is naar een ander inperkingsniveau, zoals bijvoorbeeld D-I of het terugzetten buiten een inperkingsniveau. Productie van transgene proefdieren is het creëren van transgene nakomelingen door middel van bijvoorbeeld virale vectoren voor kiembaantransmissie.

Eerdere COGEM adviezen

De COGEM heeft in het verleden diverse adviezen uitgebracht betreffende experimenten met onder meer adenovirale vectoren in associatie met rhesusapen en chimpansees waarbij mede geadviseerd werd over terugplaatsing en hergebruik (CGM/021202-01; CGM/021001-04; CGM/020906-03; CGM/020823-07; CGM/020513-03; CGM/010724-03; CGM/010606-04; CGM/010206-02). Op basis van onder andere nieuwe inzichten heeft de COGEM op 16 december 2002 een algemeen advies uitgebracht betreffende het gebruik van adenovirale vectoren in apen (CGM/021216-03). In dit advies heeft de COGEM gesteld dat deze dieren in principe niet gebruikt mogen worden voor fokdoeleinden of hergebruikt mogen worden in experimenten. Een mogelijk risico van het hergebruik van adenovirale vectoren geïnfekteerde apen is het feit dat eventueel aanwezige recombinant adenovirussen uit eerdere experimenten geactiveerd en uitgescheiden kunnen worden door wildtype adenovirussen (3; 5; 7; 10). Immers, adenovirussen komen van nature voor in

rhesusapen en bezitten de eigenschap om latent in hun gastheer aanwezig te blijven (2). Deze situatie van mogelijke reactivatie kan ontstaan door stress en verzwakking van het immuunsysteem als gevolg van het uit te voeren experiment (4; 8).

In een recent advies (CGM/030918-01) heeft de COGEM geadviseerd dat met adenovirale vectoren geïnfecteerde apen niet voor een vervollexperiment gebruikt mogen worden, tenzij de vervollexperimenten afdoende ingeperkt worden waarbij een *case-by-case* benadering gevolgd dient te worden.

Behalve over adenovirale vectoren heeft de COGEM ook geadviseerd (CGM/030604-02) over terugplaatsing van rhesusapen die gevaccineerd zijn met op het *Semliki forest virus* (SFV) gebaseerde replicatie-incompetente vectoren (9). De COGEM heeft destijds geadviseerd dat de proefdieren naar een lager inperkingsniveau teruggeplaatst kunnen worden, mits een diagnostische PCR test op bloedmonsters negatief uitvalt. Gezien de gevoeligheid van een dergelijke test is de kans dat een recombinant virus in het lichaam aanwezig is bij een negatief resultaat verwaarloosbaar klein.

In het advies CGM/030401-02 adviseert de COGEM over terugplaatsing van muizen twee weken na infectie naar een huisvesting van een lager inperkingsniveau. In het betreffende advies zijn de muizen geïnfecteerd met een niet-replicatiecompetente lentivirale vector (1). Terugplaatsing is volgens de COGEM alleen acceptabel, mits aan een aantal voorwaarden voldaan is om eventuele verspreiding van de vector naar niet-geïnfecteerde dieren te voorkomen. Niet-geïnfecteerde dieren zouden onbedoeld geïnfecteerd kunnen raken met de lentivirale vector.

Naast bovengenoemde adviezen heeft de COGEM ook geadviseerd over de productie van transgene knaagdieren. In het betreffende advies (CGM/031001-01) adviseert de COGEM dat transgene muizen en ratten vervaardigd met 3^e generatie lentivirale vectoren onder voorwaarden direct teruggeplaatst kunnen worden naar het laagste inperkingsniveau (D-I), waarna vervollexperimenten zouden kunnen plaatsvinden (1; 6). De kans op aanwezigheid van lentivirale vectoren in nakomelingen van de met 3^e generatie lentivirale vectoren geïnfecteerde dieren is volgens de COGEM verwaarloosbaar klein.

Overwegingen en advies

In het onderhavige algemene advies stelt de COGEM een richtsnoer op betreffende experimenten waarbij proefdieren hergebruikt of teruggeplaatst worden, dan wel transgene proefdieren geproduceerd worden.

Uit de eerdere COGEM adviezen blijkt dat een veelvoud aan combinaties van proefdier en virale vector mogelijk is. In de hierboven genoemde adviezen komen rhesusapen, chimpansees, muizen en ratten aan bod die geïnfecteerd worden met onder andere adenovirale vectoren, SFV vectoren en lentivirale vectoren. Ook wordt een scala van verschillende inserts (genen) gebruikt, hetgeen de risico-analyse verder compliceert. De COGEM is zich er dan ook van bewust dat een advies waarbij alle mogelijke situaties aan de orde komen niet realistisch is. Tevens spelen bij de vergunningaanvragen naast technisch wetenschappelijke aspecten zoals hergebruik en terugplaatsing, ook maatschappelijke en ethische aspecten.

De COGEM onderkent met betrekking tot experimenten met virale vectoren in combinatie met proefdieren de volgende drie situaties: (1) hergebruik van proefdieren, (2) terugplaatsing van proefdieren naar een ander inperkingsniveau, en (3) productie en gebruik van transgene proefdieren. Als gevolg van het grote aantal verschillende vectoren en proefdieren die in experimenten gebruikt kunnen worden is het nagenoeg onmogelijk om alle potentiële risico's voor mens en milieu van de afzonderlijke experimenten te analyseren en te vertalen naar algemene regelgeving. Om de veiligheid voor mens en milieu te waarborgen adviseert de COGEM om voor de bovengenoemde drie situaties een "nee, tenzij" beleid te hanteren, daar het op voorhand moeilijk te voorspellen is welke virussen gereactiveerd kunnen worden of zouden kunnen ontstaan door recombinitie tussen wildtype virussen en de gebruikte virale vectoren. Daarom adviseert de COGEM een *case-by-case* benadering voor elke situatie en vergunningaanvraag te volgen, waarbij specifieke aanvullende eisen en voorwaarden gesteld kunnen worden.

Referenties

1. Dull, T., Zufferey, R., Kelly, M., Mandel, R. J., Nguyen, M., Trono, D., and Naldini, L. (1998). A third-generation lentivirus vector with a conditional packaging system. *J Virol* **72**, blz. 8463-71
2. Flint, S. J. (2004). Principles of Virology. Molecular Biology, Pathogenesis and Control. ASM Press, Washington D.C.
3. Griscelli, F., Opolon, P., Saulnier, P., Mami-Chouaib, F., Gautier, E., Echchakir, H., Angevin, E., Le Chevalier, T., Bataille, V., Squiban, P., Tursz, T., and Escudier, B. (2003). Recombinant adenovirus shedding after intratumoral gene transfer in lung cancer patients. *Gene Ther* **10**, blz. 386-95
4. Hierholzer, J. C. (1992). Adenoviruses in the immunocompromised host. *Clin Microbiol Rev* **5**, blz. 262-74

5. Imler, J. L., Bout, A., Dreyer, D., Dieterle, A., Schultz, H., Valerio, D., Mehtali, M., and Pavirani, A. (1995). Trans-complementation of E1-deleted adenovirus: a new vector to reduce the possibility of codissemination of wild-type and recombinant adenoviruses. *Hum Gene Ther* **6**, blz. 711-21
6. Lois, C., Hong, E. J., Pease, S., Brown, E. J., and Baltimore, D. (2002). Germline transmission and tissue-specific expression of transgenes delivered by lentiviral vectors. *Science* **295**, blz. 868-72
7. Rademaker, H. J., Abou El Hassan, M. A., Versteeg, G. A., Rabelink, M. J., and Hoeben, R. C. (2002). Efficient mobilization of E1-deleted adenovirus type 5 vectors by wild-type adenoviruses of other serotypes. *J Gen Virol* **83**, blz. 1311-4
8. Smith, K., Brown, C. C., and Spindler, K. R. (1998). The role of mouse adenovirus type 1 early region 1A in acute and persistent infections in mice. *J Virol* **72**, blz. 5699-706
9. Van Regenmortel, M. H. V. (2000). Seventh report of the international committee on taxonomy of viruses. Academic Press, San Diego.
10. Zheng, B., Mittal, S. K., Graham, F. L., and Prevec, L. (1994). The E1 sequence of bovine adenovirus type 3 and complementation of human adenovirus type 5 E1A function in bovine cells. *Virus Res* **31**, blz. 163-86