

Aan de staatssecretaris van
Infrastructuur en Waterstaat
drs. V.L.W.A. Heijnen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 01 augustus 2023
KENMERK CGM/230801-01
ONDERWERP Advies veterinaire studie HVT-vaccin tegen aviaire influenza in kippen

Geachte mevrouw Heijnen,

Naar aanleiding van een vergunningaanvraag getiteld 'Het onder praktijkomstandigheden toepassen van Turkey herpesvirus HVT gebaseerde vectorvaccins (Vectormune-HVT-AIV en (Vaxxitek HVT-IBD-H5), met een insert van hemagglutinine (HA) gen van het H5 subtype, in (opfok)leghennen, om de immunologische respons in de tijd vast testellen' (IM-MV 23-005_000) van de Gezondheidsdienst voor Dieren, deelt de COGEM u het volgende mee.

Samenvatting:

De COGEM is gevraagd te adviseren over een veterinaire studie met twee genetisch gemodificeerde (gg-) Herpes virus of turkey (HVT) vaccins, als levende vaccins tegen verschillende virussen, maar met name tegen vogelgriep (aviaire influenzavirussen subtype H5) in kippen.

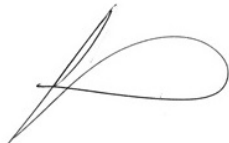
HVT komt van nature voor in kalkoenen en is niet ziekteverwekkend. Het virus wordt sinds de jaren '70 gebruikt als levend vaccin tegen de ziekte van Marek. De recombinante HVT-vaccins bevatten inserties van het HA-gen van een influenza A subtype H5 virus. Tevens is in één van de vaccins het VP2-gen van Infectious bursal disease virus (IBDV) geïnsereerd.

De COGEM is van oordeel dat de gg-HVT-vaccins met betrekking tot pathogeniteit, tropisme en verspreiding vergelijkbaar zijn met het uitgangsgenotype, een HVT-vaccinstam. De kans op recombinitie tussen de gg-HVT vaccins en verwante virussen acht zij verwaarloosbaar klein. Daarnaast hebben (gg-)HVT-vaccins een historie van veilig gebruik in kippen in de Europese Unie. Al het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze veterinaire studie met gg-HVT-vaccins, verwaarloosbaar klein zijn.



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. Y de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal

Met het oog op eventuele belangenverstrengeling zijn de COGEM leden dr. N. Beerens en prof. dr. J.J. de Wit niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies

Veterinaire studie in leghennen met genetisch gemodificeerde HVT-vaccins tegen hoogpathogeen aviaire influenza (HPAI)

COGEM advies CGM/230801-01

1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over een vaccinatiestudie bij kippen (IM-MV 23-005) met twee genetisch gemodificeerde (gg-), cel-geassocieerde 'Herpesvirus of turkey' (HVT) kippenvaccins waarin het hemagglutinine (HA) gen van het aviaire influenza A virus H5 subtype is geïnsereerd. De aanvraag is afkomstig van de Gezondheidsdienst voor Dieren. Het doel van de studie is om de immunrespons, gewichtsonwikkeling en entreactie op de twee gg-HVT vaccins, Vectormune-HVT-AIV en Vaxxitek HVT-IBD-H5, vast te stellen gedurende het leven van de leghennen. De vaccins kunnen worden toegepast om kippen te vaccineren tegen ziekten veroorzaakt door het Marek's disease virus (MDV) en aviaire influenzavirussen van het H5 subtype. Het Vaxxitek HVT-IBD-H5 vaccin biedt daarnaast ook bescherming tegen ziekte door het infectious bursal disease virus (IBDV).

1.1 Herpesvirus of turkey (HVT)

HVT (tegenwoordig *Mardivirus meleagridalpha1* genoemd, maar ook bekend onder de oude namen *Meleagrid alphaherpesvirus 1* (MeAHV1), 'Herpesvirus of turkey', of Marek's disease virus (sero)type 3 (MDV-3)), behoort tot het genus *Mardivirus*, familie *Orthoherpesviridae* en de orde *Herpesvirales*.¹ Het genoom van HVT bestaat uit dubbelstrengs DNA (dsDNA) en is ongeveer 160 kb groot. Het virus is apathogeen en in 1970 geïsoleerd uit kalkoenen, waar het van nature voorkomt maar geen ziekte kan veroorzaken.^{2,3,4}

HVT is verwant aan het pathogene Marek's disease virus (MDV), waardoor HVT al sinds 1972 als kippenvaccin wordt gebruikt om bescherming te bieden tegen de ziekte van Marek (MD).^{2,3,5} De belangrijkste gastheer van HVT is de kalkoen. Besmetting van kalkoenen vindt voornamelijk plaats via de luchtwegen, na uitscheiding in de veerfollikels en inhalatie van besmette huidschilfers of contact met besmette mest.⁶ Binnen het lichaam verplaatst het virus zich via lymfocyten. HVT kan, naast kalkoenen, onder experimentele omstandigheden ook duiven, kwartels, fazanten en kippen infecteren. Hoewel in kippen en fazanten wel virusreproductie plaatsvindt, wordt het virus - in vergelijking met kalkoenen - in deze diersoorten in veel mindere mate uitgescheiden. Verspreiding onder de kippenpopulatie vindt nauwelijks plaats.⁷ Verspreiding van HVT in kippen via de natuurlijke verspreidingsroute (de lucht) is alleen onder experimentele condities aangetoond.⁸ Verspreiding van HVT tussen kalkoenen, en van gevaccineerde kippen naar kalkoenen, kan echter plaatsvinden onder natuurlijke omstandigheden. HVT is niet in staat te repliceren in bepaalde zoogdiercellen en zoogdieren, en infectie in zoogdieren is nog nooit aangetoond.^{9,10} De HVT stam FC-126 wordt al meer dan 40 jaar veelvuldig gebruikt als vaccinstam tegen MD.

Er zijn wereldwijd verschillende gg-HVT vaccins op de markt waar reeds miljoenen tot miljarden kippen mee zijn gevaccineerd.

1.2 Marek's disease virus (MDV)

Mardivirus gallidalpha2 (ook wel bekend als *Gallid alphaherpesvirus 2* (GaHV-2), voorheen ook wel Marek's disease virus (MDV) of MDV (sero)type 1 genoemd), veroorzaakt de ziekte van Marek (MD). Net als HVT behoort MDV tot de familie *Orthoherpesviridae*, de subfamilie *Alphaherpesvirinae* en het genus *Mardivirus*. MD komt voor bij pluimvee en wordt gekenmerkt door een woekering van witte bloedcellen (T-cel lymfoom) waardoor het zenuwstelsel wordt aangetast. De ziekte gaat mede gepaard met verlamingsverschijnselen en kent een acute en latente fase.^{11,12} Kippen worden beschouwd als de natuurlijke gastheer van MDV, maar ook kwartels, kalkoenen en fazanten kunnen geïnfecteerd worden.¹³ Het virus is zeer infectieus. Bij niet gevaccineerde populaties kan de morbiditeit en mortaliteit oplopen tot 90%.^{14,15}

1.3 Infectious bursal disease virus (IBDV)

Infectious bursal disease virus (IBDV, tegenwoordig *Avibirnavirus gumboroense*) veroorzaakt 'infectious bursal disease' (IBD), ook wel de ziekte van Gumboro genoemd. IBDV behoort tot de familie *Birnaviridae* en het genus *Avibirnavirus*.¹⁶ De ziekte komt voor bij zowel leg- als vleeskuikens. Geïnfecteerde kalkoenen vertonen geen ziekteverschijnselen.¹⁷ Het virus infecteert en doodt de IgM-dragende, onrijpe lymfocyten in de Bursa van Fabricius waardoor immuunsuppressie optreedt en een verhoogde vatbaarheid voor ziekten ontstaat, wanneer deze infectie plaatsvindt op zeer jonge leeftijd.^{18,19} De Bursa van Fabricius is een belangrijk orgaan voor de ontwikkeling van het immuunsysteem bij jonge kippen. IBD is een erg besmettelijke ziekte bij jonge kippen. De mortaliteit is afhankelijk van de virusstam en ligt tussen 0 en 100%. Besmetting vindt plaats via de orale route. Er zijn vele vaccins beschikbaar. Het virus kan humane cellen infecteren, maar is niet geassocieerd met een ziekte bij de mens.²⁰

1.4 Aviaire influenza virussen (AIV)

Wilde watervogels zijn de natuurlijke reservoirs voor influenza A virussen.²¹ Influenza A virus (tegenwoordig *Alphainfluenzavirus influenzae*) behoort tot de familie *Orthomyxoviridae* en het genus *Alphainfluenzavirus*.¹⁶ Van een beperkt aantal subtypen is aangetoond dat deze incidenteel mensen of andere zoogdieren kunnen infecteren. De meeste aviaire influenzavirussen zijn laagpathogeen en veroorzaken in het algemeen geen tot milde symptomen bij pluimvee en wilde vogels. Bepaalde aviaire influenza A virussen zijn echter hoogpathogeen (i.e., H5 en H7) en veroorzaken een zeer ernstige en besmettelijke ziekte (vogelgriep of vogelpest) bij pluimvee en andere vogelsoorten.²¹ Het onderscheid tussen hoogpathogene aviaire influenza (HPAI) en laagpathogene aviaire influenza (LPAI) virussen, is gebaseerd op de aminozuurvolgorde van de proteolytische klievingsplaats van het HA0-eiwit (de precursor van HA).²¹ Een voor pluimvee laagpathogeen virus is echter niet altijd laagpathogeen voor andere dieren of mensen (bijvoorbeeld: LPAI H7N9 kan ernstige ziekte veroorzaken bij de mens).

2. Opzet van de veterinaire studie

In deze veterinaire (veld)studie zullen eendagskuikens worden gevaccineerd met de gg-HVT-vaccins. De veldstudie zal worden uitgevoerd op pluimveebedrijven gelegen in Overijssel en Flevoland. Tijdens de studie zal de vaccinatie en huisvesting onder praktijk- ofwel veldomstandigheden plaatsvinden. Voor

de studie worden maximaal 6 groepen leghennen gebruikt met maximaal enkele duizenden dieren per groep. In totaal zullen maximaal 100.000 dieren per gg-HVT-vaccin gebruikt worden voor de studie. De kippen zullen volgens het reguliere vaccinatieprogramma gevaccineerd worden in de broederij en zullen daarbij aanvullend één van de twee HVT-gebaseerde vaccins toegediend krijgen door middel van injectie (m.u.v. de controlegroep). Alle vaccins worden op de eerste levensdag toegediend in een dosering van 2.500 tot 8.000 plaque-vormende eenheden ('plaque forming units'; PFU). Daarna worden de dieren naar een opfokbedrijf vervoerd, en bij een leeftijd tussen 16 en 18 weken worden zij naar het legbedrijf vervoerd. Sommige groepen kunnen op latere leeftijd een boostervaccin toegediend krijgen tegen aviaire influenza, bestaande uit een subunit-vaccin (Volvac-BEST-AI-ND) of een mRNA-vaccin. Mest en strooisel zullen vanaf 8 weken na de vaccinatie uit de stal verwijderd en vervangen worden. Dieren die vroegtijdig komen te overlijden voor de 28^{ste} levensdag zullen op de huisvestingslocatie worden onderzocht door middel van sectie. Vanaf 28 dagen zullen kadavers naar het laboratorium van de vergunninghouder vervoerd worden, of als kadaverafval ter destructie worden aangeboden.

Na vaccinatie zal een 'challenge' met wildtype aviaire influenzavirussen plaatsvinden, maar dit zal in een ingeperkte ruimte plaatsvinden en valt derhalve niet onder deze IM-vergunningaanvraag. Tijdens het onderzoek zullen regelmatig bloedmonsters en vanaf 30 dagen na vaccinatie ook 'swabs' worden afgenomen, die in het laboratorium zullen worden onderzocht.

De pluimveebedrijven waar de studie plaatsvindt, liggen niet in een pluimveedicht gebied, en de afstand tot pluimveebedrijven waar kalkoenen gehouden worden zal minimaal 1000 meter betreffen. Ook bevinden de bedrijven zich op minstens 500 meter afstand van water waar zich wilde vogels kunnen ophouden.

3. Virale vectoren

Beide gg-vaccins, Vectormune-HVT-AIV en Vaxxitek HVT-IBD-H5, zijn gebaseerd op de apathogene HVT vaccinstam FC-126. Vectormune-HVT-AIV bevat een insertie van het HA-gen afkomstig van het HPAI subtype 5 H5 virus A/mute swan/Hungary/4999/2006, behorende tot de clade 2.2 H5N1 HPAI. Het HA-gen in Vectormune HVT-AIV is gemodificeerd op de klievingsplaats, waarbij een aantal basische aminozuren vervangen zijn door zure aminozuren. Dit heeft tot gevolg dat de klievingsplaats een monobasisch aminozuur bevat en daarmee dezelfde eigenschappen heeft als de klievingsplaats in HA0 van een LPAI. Het insert bevat als regulatoire sequenties een cytomegalovirus (CMV) promotor/enhancer en een SV40 (Simian virus 40) polyadenyleringssignaal. Vectormune-HVT-AIV is nog niet tot de Europese markt toegelaten. In andere landen, waaronder de Verenigde staten, Egypte, Bangladesh en Mexico is dit vaccin sinds 2012 beschikbaar.

Vaxxitek HVT-IBD-H5 betreft een uitbreiding van het in 2002 tot de Europese markt toegelaten vaccin 'Vaxxitek HVT-IBD',²² dat het VP2-gen van het Infectious Bursal Disease Virus (IBDV) stam Faragher 52/70 tot expressie brengt. In Vaxxitek HVT-IBD-H5 komt daarnaast ook het HA-gen subtype H5 tot expressie. Het HA-gen in Vaxxitek HVT-IBD betreft een bioinformatisch geoptimaliseerde sequentie ('Computationally Optimized Broadly Reactive Antigen', COBRA) op basis van bekende HPAI HA-

sequenties, waarmee een kunstmatig HA-construct is verkregen dat naar verwachting werkzaam is tegen verschillende HPAI-stammen. Eerder aan het HA-gen van Vectormune HVT-AI, is ook dit construct aangepast op de klievingsplaats door het vervangen van een aantal basische aminozuren, waardoor een monobasisch LPAI HA ontstaat. Het VP2- en HA-gen zijn gescheiden door een 'internal ribosome entry site' (IRES), en zijn voorzien van een CMV (murine cytomegalovirus) promoter en SV40 polyadenyleringssignaal.

4. Eerder COGEM advies

De COGEM heeft HVT ingedeeld als strikt dierpathogeen in pathogeniteitsklasse 1.²³ Tevens heeft de COGEM verscheidene keren geadviseerd over veterinaire proeven met HVT-afgeleide vaccins in kippen, en over de markttoelating van meerdere HVT-afgeleide vaccins.

In 2012 heeft de COGEM geadviseerd over een veterinaire studie met het vaccin Innovax ILT. Dit vaccin is gebaseerd op dezelfde HVT vaccinstam FC-126, maar bevat daarnaast de coderende sequentie voor de glycoproteïnen gD en gI van *Iltovirus gallidalphal* (voorheen *Gallid herpesvirus 1*). Het vaccin is bedoeld om kippen te beschermen tegen de ziekte van Marek en tegen infectieuze laryngotracheïtis. Doordat belangrijke gegevens over de moleculaire karakterisering en de stabiliteit van het vaccin in de aangeleverde informatie ontbraken, kon de COGEM aanvankelijk niet tot een definitief oordeel komen over de eventuele milieurisico's.²⁴ Na aanlevering van de ontbrekende gegevens oordeelde de COGEM evenwel dat de milieurisico's van de veldstudie met Innovax-ILT verwaarloosbaar klein zijn.²⁵

De COGEM heeft in 2016 ook geadviseerd over een veterinaire studie in kippen met het HVT-ND-IBD vaccin. Dit vaccin is gebaseerd op de vaccinstam FC-126 en bevat de coderende sequenties van het F-gen van NDV en het VP2-gen van IBDV.²⁶ In eerste instantie waren de door de aanvrager meegeleverde gegevens omtrent de moleculaire karakterisering van het gg-vaccin HVT-ND-IBD onvolledig, waardoor de COGEM in het advies niet tot een definitief eindoordeel kon komen. Na aanlevering van aanvullende informatie van de aanvrager was de COGEM van oordeel dat de milieurisico's bij de veldproef met HVT-ND-IBD verwaarloosbaar klein waren wanneer de eerder voorgestelde managementmaatregelen in acht werden genomen.²⁷

5. Overweging

Bij de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) zijn voor de milieurisico-analyse verschillende aspecten van belang, zoals de eigenschappen van het ggo, de moleculaire karakterisering, de pathogeniteit, uitscheiding door de gastheer en de eventuele overleving en verspreiding van het ggo in het milieu. De van belang zijnde milieurisicoaspecten worden hieronder puntsgewijs besproken.

5.1 Eigenschappen van het ggo

Het uitgangsgenotype voor beide gg-vaccins, HVT-stam FC-126, is apathogeen en het gastheerbereik is beperkt tot vogelsoorten.^{2,3} Er zijn inmiddels verschillende HVT-afgeleide kippenvaccins toegelaten tot de Europese markt die gebaseerd zijn op FC-126. In beide vaccins die in onderhavige studie getest worden is een monobasische klievingsplaats aanwezig in het HA-gen, dat het onderscheid vormt tussen hoog- en laagpathogene influenzavirussen. De monobasische klievingsplaats in LPAI kan alleen door

trypsine-achtige proteases in de luchtwegen en de darmen worden gekliefd,^{28,29} terwijl de polybasische klievingsplaats in HPAI gekliefd worden door intracellulaire proteases die in het hele lichaam tot expressie komen. Hierdoor kunnen HPAI-virussen systemische infecties veroorzaken met ernstige symptomen.^{29,30} De aanvrager heeft voor zowel Vectormune HVT-AIV als Vaxxitek HVT-IBD-H5 gegevens over veiligheidsstudies aangeleverd. In de veiligheidsstudies is onder andere gekeken naar het weefsel tropisme van de gg-HVT vaccins en de veiligheid bij 10 keer overdosering. De studies toonden aan dat het weefsel tropisme van de gg-HVT vaccins vergelijkbaar is met die van het uitgangsvirus en dat in zoogdiercellen geen vermeerdering optreedt. De overdosis leidde in kippen en kalkoenen niet tot gezondheidsklachten of klinische symptomen en macroscopische laesies.

Op basis van de veiligheidsstudies met de gg-HVT vaccins is de COGEM van oordeel dat er geen reden is om aan te nemen dat de insertie van de HA (H5)- of VP2/HA (H5)-expressiecassette de eigenschappen van het uitgangsorganisme HVT FC-126 veranderen.

5.2 Moleculaire karakterisering

De COGEM acht het van belang dat een gg-virus in voldoende detail moleculair is gekarakteriseerd. Op deze manier kan worden vastgesteld of de geïntroduceerde eigenschappen op een correcte wijze en op de goede plaats in het genoom zijn ingebracht.³¹

De vaccins die in de onderhavige studie getest worden, zijn door derden geproduceerd en moleculair gekarakteriseerd. De vaccins zijn geconstrueerd via homologe recombinatie tussen donorplasmide en het virale genoom in 'chicken embryo fibroblast' CEF-cellen. Insertie van de expressiecassette heeft in beide vaccins plaatsgevonden in een niet-coderend gebied tussen twee open leesramen (ORF's) in het HVT-genoom. Door de insertie van de transgene sequenties zijn geen andere genetische of fenotypische kenmerken gewijzigd. De aanvrager stelt dat de insertie tevens geen invloed heeft op de ORF's van het genoom en er geen fusie-ORF's gevormd worden die leiden tot functionele eiwitten. Na insertie van de expressiecassette zijn de vaccins onder andere gekarakteriseerd door een immunofluorescentie assay, PCR sequentieanalyse, en Southern blot. Met deze analyses is aangetoond dat het insert in de juiste oriëntatie en op de juiste locatie in het virale genoom is geïnsereerd, dat het fragment de juiste grootte heeft, dat er maar één kopie in het genoom aanwezig is, en is eiwitexpressie bevestigd. De PCR sequentieanalyse is uitgevoerd op de geïnsereerde sequenties en de flankerende HVT-sequenties. De aanvrager stelt dat de geïnsereerde sequenties volledig identiek zijn aan de eerder bepaalde sequentie van de flankerende HVT-sequenties.

De aanvrager stelt dat bij 5 keer *in vitro* passage van het 'master seed virus' (MSV) op CEF-cellen geen mutaties zijn gevonden en dat 100% sequentie-identiteit is gewaarborgd in de productiemethode. Fenotypische stabiliteit van de gg-HVT vaccins na passage is bevestigd met specifieke mono- en polyclonale antilichamen tegen de tot expressie gebrachte eiwitten in een immunofluorescentie-assay. Na productie van het vaccin worden virustiters bepaald door gebruik te maken van plaque assay's.

Al het bovenstaande in overweging nemende, is de COGEM van oordeel dat de moleculaire karakterisering van de gg-HVT vaccins afdoende is.

5.3 Recombinatie

Tijdens de vaccinstudie zullen de kippen via het reguliere vaccinatieprogramma gevaccineerd worden en daarnaast één van de twee gg-vaccins ontvangen. Ook bestaat de mogelijkheid dat de kippen gedurende de studie blootgesteld worden aan virussen van buitenaf.

HVT-vaccins worden al meer dan een halve eeuw gebruikt in combinatie met andere vaccins, zoals het Rispens CVI988 (Nobilis Rismavac, MDV serotype 1) vaccin tegen de ziekte van Marek. Recombinatie tussen verschillende vaccinstammen is nog nooit beschreven. De kans dat recombinitie optreedt tussen de gg-HVT vaccins en andere vaccinstammen of in het veld aanwezige virulente MDV-stammen, is net als voor wildtype HVT verwaarloosbaar klein. Tevens is nooit integratie van HVT-sequenties in het genoom van de gastheer aangetoond.

Er zijn bij de COGEM geen rapportages bekend over het optreden van recombinitie van gg-HVT vaccins met wildtype virussen. Het theoretische scenario dat recombinitie plaatsvindt tussen de gg-vaccins en wildtype aviaire influenzavirussen of IBDV, acht de COGEM verwaarloosbaar klein omdat influenzavirussen en IBDV beide RNA-virussen zijn en het HVT-genoom uit dubbelstrengs DNA bestaat. In het theoretische geval dat recombinitie tussen deze virussen toch zou plaatsvinden, zou het verlies of de uitwisseling van het VP2-gen van IBDV en/of het HA-gen van aviaire influenzavirussen niet tot een verandering van eigenschappen leiden van de gg-HVT vaccins of de wildtypen IBDV en AIV. Omdat het HA-gen in de gg-vaccins aangepast is op de klievingsplaats, zou een eventuele recombinitie niet leiden tot een HPAI. Daarnaast verschilt het celtropisme van aviaire influenzavirussen en HVT, waardoor de kans op co-infectie – een vereiste voor recombinitie – sterk verkleind wordt. Met betrekking tot het IBDV VP2-gen merkt de COGEM op dat dit gen al lange tijd onderdeel uitmaakt van een vaccin tot de Europese markt is toegelaten (Vaxxitek HVT-IBD) en waarvan recombinitie met andere virussen nooit is beschreven.

Vaxxitek HVT-IBD-H5 en Vectormune-AI bevatten tevens een CMV-promoter en SV40 polyadenyleringssignaal. Cytomegalovirussen en SV40 infecteren echter alleen zoogdieren en zijn nooit geassocieerd met infectie van vogels. De kans op recombinitie tussen de HVT-vaccins en deze virussen is derhalve verwaarloosbaar klein.

Vaccins gebaseerd op FC-126 worden al lange tijd toegepast, waarbij recombinitie tussen vaccinstammen of wildtype virussen nooit is gerapporteerd. De COGEM is van oordeel dat het milieurisico van potentiële recombinitie tussen de gg-HVT-vaccins en wildtype virussen of andere toegepaste kippenvaccins, verwaarloosbaar klein is.

5.4 Uitscheiding en verspreiding van het ggo

HVT is een sterk cel-geassocieerd virus, wat inhoudt dat het virus zich via direct cel-celcontact verspreidt (door middel van nanotubes). Alleen door veerfollikelepitheelcellen kan cel-vrij virus worden uitgescheiden.^{7,32} De natuurlijke gastheer van HVT is de kalkoen. HVT kan onder experimentele condities ook kippen infecteren, maar uitscheiding van het virus vindt in kippen in veel mindere mate

plaats dan in kalkoenen.^{7,33} Studies naar de verspreiding van de onderhavige HVT-vaccins toonden aan dat de gg-HVT vaccins zich eender als het uitgangsvirus gedragen met betrekking tot replicatie en spreiding naar andere vogels. Er is na toediening aan kippen geen infectie van controlekippen waargenomen.

Tijdens de studie zullen de dieren op verschillende momenten verplaatst worden. Op de eerste dag zullen de eendagskuikens na de vaccinatie getransporteerd worden naar het opfokbedrijf in een gesloten vrachtwagen met verwarming en mechanische ventilatie. Omdat de vector zich dan nog niet heeft vermeerderd, stelt de aanvrager dat er nog geen verspreiding plaats kan vinden.³⁴ Wanneer de dieren 16 weken oud zijn, zullen zij vervoerd worden naar het legbedrijf in kratten in een vrachtwagen die afgesloten is met zeilen. Tenslotte zullen de dieren op eenzelfde wijze naar een locatie gebracht worden voor de besmettingsexperimenten. De besmettingsexperimenten maken geen onderdeel uit van deze vergunningaanvraag, omdat deze in een ingeperkte ruimte uitgevoerd zullen worden. Tijdens de studie zullen ook 'swabs' en bloedmonsters afgenomen worden. Bij bloedmonsters kan het gg-HVT vaccin in lymfocyten aanwezig zijn. Bij bloedafname zullen medewerkers beschermende kleding dragen (overall, bedrijfsschoeisel, haarnet en handschoenen) en douchen na het verpakken van de monsters.

Het dichtstbijzijnde bedrijf waar kalkoenen worden gehuisvest, is minstens 1 kilometer verwijderd van de locaties waar de kippen worden gehouden, waardoor de kans op spreiding van het ggo naar kalkoenen verwaarloosbaar klein is. Tevens zijn de pluimveebedrijven waar de kippen gehouden worden, minstens 500 meter verwijderd van waterpartijen waar zich wilde vogels kunnen ophouden. De gevaccineerde kippen worden na afloop van het experiment geëuthanaseerd en deze kippen (en hun eieren) zullen voor destructie worden aangeboden. De aanvrager stelt dat verspreiding via mest de eerste 28 dagen na vaccinatie kan plaatsvinden, maar dat aanwezige virusdeeltjes in mest slechts enkele uren infectieus zullen zijn. Bedrijfsafval zoals mest en strooisel zal pas 8 weken na vaccinatie uit de stal gehaald worden. Mest en strooisel kan uitgereden worden op bouwland of ter verbranding worden afgevoerd. In deze afvalstromen zal volgens de aanvrager geen infectieus gg-HVT aanwezig zijn. De stal, gebruikersmateriaal en de vrachtwagens gebruikt voor transport zullen gereinigd en gedesinfecteerd worden met een ontsmettingsmiddel dat effectief is tegen microbiologische agentia zoals virussen, waaronder HVT. Het afvalwater dat vrijkomt bij het schoonmaken zal volgens gangbare praktijk op de boerderij verwerkt worden, bijvoorbeeld door het op te vangen en over het land te verdelen.

De COGEM is op basis van het bovenstaande van oordeel dat de uitscheiding en verspreiding van de gg-HVT vaccins ongewijzigd is ten opzichte van het uitgangsgenotype HVT FC-126, en zij acht het risico van verspreiding bij deze veldproef verwaarloosbaar klein.

6. Advies

De COGEM is van oordeel dat de eigenschappen van de HVT-vaccins Vectormune-HVT-AIV en Vaxxitek HVT-IBD-H5 eender zijn aan het ouderorganisme HVT FC-126 en daarmee geattenuëerd zijn. Daarnaast acht zij het risico van verspreiding bij de onderhavige veterinaire studie verwaarloosbaar klein. Al het bovenstaande in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu verbonden aan deze veldstudie met gg-HVT vaccins verwaarloosbaar klein zijn.

Referenties

1. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Mardivirus meleagridalpha1* https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202101421 (bezocht: 16 Mei 2023)
2. Witter RL *et al.* (1970). Isolation from turkeys of a cell-associated herpesvirus antigenically related to *Marek's disease virus*. *Am. J. Vet. Res.* 31: 525-538
3. Witter RL & Solomon JJ (1971). Epidemiology of a Herpesvirus of Turkeys: possible sources and spread of infection in turkey flocks. *Infect. Immun.* 4: 346 - 361
4. COGEM (2013). Classificatie human- en dierpathogene DNA virussen. COGEM advies CGM/130917-01
5. Fabricant J *et al.* (1982). The early pathogenesis of Turkey Herpesvirus infection in chickens and turkeys. *Av. Dis.* 26: 257-264
6. Schat KA & Nair V (2008). Neoplastic diseases: Marek's disease. In: *Disease of poultry*. 12th ed. Saif, Blackwell publishing, Oxford, UK
7. Zygraich N & Huygelen C (1972). Inoculation of one-day old chicks with different strains of turkey herpesvirus II. Virus replication in tissues of inoculated animals. *Av. Dis.* 16: 793-798
8. Cho BR and Kenzy SG (1975). Horizontal transmission of Turkey Herpesvirus to chickens. *Poult. Sci.* 54: 109-115
9. Hlozanek I & Sovova V (1974). Lack of pathogenicity of Marek's disease herpesvirus and herpesvirus of Turkeys for mammalian hosts and mammalian cell cultures. *Folia Biol.* 20: 51-58
10. Sharma JM *et al.* (1972). Lack of pathogenicity of Marek's disease virus and herpesvirus of turkeys in marmoset monkeys. *J. Natl. Cancer Instit.* 49:1191-1197
11. Parcells MS & Burgess SC (2008). Immunological aspects of Marek's disease virus (MDV)-induced lymphoma progression. In: Kaiser HE, Nasir A, editors. *Selected aspects of cancer progression: metastasis, apoptosis and immune response*. Dordrecht (the Netherlands): Springer. 169-191
12. Neerukonda SN *et al.* (2019). Transcriptional analyses of innate and acquired immune patterning elicited by *Marek's Disease Virus* vaccine strains: *Turkey herpesvirus (HVT)*, *Marek's Disease Virus 2* (ssstrain SB1), and bivalent vaccines (HVT/SB1 and HVT-LT/SB1). *Av. Dis.* 63: 670-680
13. Schat KA & Nair V (2008). Neoplastic diseases: Marek's disease. In: *Disease of poultry*. 12th ed. Saif, Blackwell publishing, Oxford
14. Trapp S & Osterrieder N (2008). Herpesviruses of birds. In: *Encyclopedia of Viruses*. Elsevier Academic Press
15. Osterrieder N *et al.* (2006). Marek's disease virus: from miasma to model. *Nat. Rev. Microbiol.* 4: 283-294
16. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/> (bezocht: 28 juni 2023)
17. Barnes HJ *et al.* (1982). Serologic evidence of infectious bursal disease virus infection in Iowa turkeys. *Avian Dis.* 26: 560-565
18. Kibenge FSB *et al.* (1988). Biochemistry and immunology of infectious bursal disease virus. *J. Gen. Virol.* 69: 1757-1775

19. Liu H *et al.* (2010). Comparison of the expression of cytokine genes in the bursal tissues of the chickens following challenge with infectious bursal disease viruses of varying virulence. *J. Virol.* 7: 360-364
20. Pedersen KA *et al.* (1990). Antibodies to avian viruses in humans. *Epidemiol. Infect.* 104: 519-525
21. Wright PF *et al.* (2013). Chapter 41 Orthomyxoviruses. In: *Fields Virology*, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
22. European Medicines Agency (EMA). Vaxxitek HVT-IBD - Infectious bursal disease and Marek's disease vaccine (live recombinant).
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/vaxxitek-hvtibd> (bezoekt: 29 juni 2023)
23. COGEM (2021). Actualisatie van de pathogeniteitsclassificatielijsten met humaan- en dierpathogene RNA- en DNA-virussen (2021). COGEM advies CGM/211117-01
24. COGEM (2012). Aanvullende informatie kippenvaccin Innovax-ILT. COGEM advies CGM/120718-01
25. COGEM (2012). Moleculaire karakterisering kippenvaccin-ILT. COGEM advies CGM/121024-01
26. COGEM (2016). Veterinaire studie met een kippenvaccin tegen de ziekte van Marek, Newcastle Disease en Infectious Bursal Disease. COGEM advies CGM/160120-01
27. COGEM (2016). Aanvullend advies over een veterinaire studie met een kippenvaccin. COGEM advies CGM/160317-01
28. Short KR *et al.* (2015). One health, multiple challenges: The inter-species transmission of influenza A virus.
29. COGEM (2020). Heroverweging pathogeniteitsclassificatie influenza a virussen. COGEM advies CGM/201006-02
30. Wright PF *et al.* (2013). Chapter 41 Orthomyxoviruses. In: *Fields Virology*, volume 1, sixth edition. Edited by Knipe DM *et al.* Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia
31. COGEM (2013). Criteria voor moleculaire karakterisering van ggo's voor toepassing in klinische of veterinaire studies. COGEM advies CGM/130227-05
32. Okura T *et al.* (2021). Cell-to-cell transmission of turkey herpesvirus in chicken embryo cells via tunneling nanotubes. *Avian Dis.* 65: 335-339
33. Cho BR (1976). Horizontal transmission of turkey herpesvirus to chickens. *Poultry Science* 55: 1830-1833
34. Islam A & Walkden-Brown SW (2007). Quantitative profiling of the shedding rate of the three Marek's disease virus (MDV) serotypes reveals that challenge with virulent MDV markedly increases shedding of vaccinal viruses. *J. Gen. Virol.* 88: 2121-2128