

INGEKOMEN 03 AUG. 2010 Universiteit Utrecht



Visiting address: Yalelaan 104, 3584 CM Utrecht

Faculty of Veterinary Medicine

**Department Clinical Sciences of
Companion Animals**

RIVM/SEC/Bureau GGO
t.a.v. Dr. H.C.M. van den Akker
Antonie van Leeuwenhoeklaan 9
Postbus 1
3720 BA Bilthoven

Telephone

+

Fax number

e-mail

Enclosure

--

Page

Page 1 of 1

Date

maandag 2 augustus 2010

Subject

VenC/V&M 10.007

Geachte collega,

Naar aanleiding van uw brief dd. 02-07-2010 (kenmerk 10.002.vr5) het volgende.

De informatie gegeven door Merial is inderdaad vertrouwelijk. De bij de oorspronkelijke aanvraag geleverde bijdrage "Environmental Field Testing Cancer Melanoma Vaccine, DNA", is afkomstig van een website waarbij de vertrouwelijke delen zwart zijn gemaakt. Mijns inziens moet daarmee de risicoanalyse al navolgbaar zijn.

In een bijlage geef ik een openbare versie van de antwoorden met in achtneming van de vertrouwelijke delen.

Het aantal te behandelen honden wordt vastgesteld op ten hoogste 50 in 5 jaar.

De analyse van de bloedmonsters op het ML-I laboratorium valt onder de bestaande vergunning IG 99-057 voor ingeperkt gebruik.

Hopend uw vragen hiermee naar volle tevredenheid te hebben beantwoord,

Met vriendelijke groet,

Dr. Ir. Jan A. Mol, VM

Cc: Ing. M.G.J. Schmitz; Dr. P.T. Odinet, Prof. Dr. J.Kirpensteijn

* KOPIE *

Antwoorden gesteld op vragen over het project getiteld "Vaccinatie met naakt nucleïnezuur coderend voor xenogenetisch humaan tyrosinase voor de inductie van specifieke afweer tegen melanoma cellen bij de hond" (IM 10-002).

1. Het gebruikte plasmide kent een CMV promotor sequentie. We gaan hier verder in op de kans van recombinatie van deze CMV sequentie met in de hond aanwezige virussen.
Het is hoogst onwaarschijnlijk dat een humaan cytomegalie virus honden kan infecteren, laat staan zich kan repliceren in de hond. In het onwaarschijnlijke geval van recombinatie zal dit leiden tot inactiveren of een verminderde expressie van het "immediate-early protein" van hCMV en zal het recombinant virus niet kunnen vermenigvuldigen. Voor zover wij weten is er nog nooit een honden cytomegalie virus beschreven ongeacht ras, leeftijd of immuun status.
Het is tevens onwaarschijnlijk dat een oudere hond met kanker viraal belast is. Eigenaren die hun hond willen laten behandelen met geavanceerde kankertherapieën hebben hun huisdier veelal goed laten vaccineren tegen de gebruikelijke hondenvirussen. Verder is alleen een herpesvirus bekend bij de hond dat de meeste homologie vertoont met hCMV. Alignment van de promotor gebieden van het honden herpes virus en hCMV laat zien dat er slechts 46% identiteit bestaat.
2. De promotor sequentie van humaan CMV IE is gepubliceerd (GenBank: M60321). Alle beschreven elementen zijn aanwezig in het pINGhT plasmide. Sequentie analyse laat zien dat de alignment met honden virussen laag is (zie ook antwoord 1.) waardoor het risico van recombinatie onwaarschijnlijk is.
Analyse van deze sequentie laat een totaal van 8 open leesramen zien, met de langste coderend voor 152 aminozuren. Een aantal van deze eiwitten vertonen homologie met het humane herpes virus 5 en humaan cytomegalie virus. Een hypothetisch B. cereus eiwit werd gevonden. Echter, de hCMV-IE promotor wordt wijdverbreid gebruikt in humaan klinische trials voor geneeskunde of DNA vaccinatie waarbij geen recombinatie gebeurtenissen zijn gemeld of invloeden op het milieu. Sinds de introductie van het honden melanoma vaccin zijn ongeveer 6000 honden behandeld in de VS, waarbij geen recombinaties zijn gemeld.
3. Het plasmide bevat een kanamycine cassette. Het betreft npt-1 en is afgeleid van een PstI fragment van plasmide pUC4 (Vieiera en Messing, Gene 19:259-268, 1982). Het kanamycine resistentie gen is in omgekeerde volgorde gekloneerd t.o.v. het tyrosinase cDNA en wordt niet afgeschreven door de CMV promotor. Transcriptie is alleen mogelijk in prokaryote cellen en dus niet in de hond.
4. Kwaliteitscontrole vindt plaats volgens de daarvoor algemeen geldende regels. Een batch plasmide wordt vrijgegeven onder de volgende condities: steriel (geen bacterie groei); maximale hoeveelheid eiwit/dosis, maximale hoeveelheid endotoxines/dosis; aanwezigheid van supercoiled plasmide; juiste fragmenten na restrictie analyse; geen met het oog waarneembare bacterieel RNA of chromosomaal DNA
5. Het aantal te behandelen honden wordt gemaximeerd op 10 honden/jaar gedurende 5 jaar. Maximaal dus 50 dieren.