

Milieurisicoanalyse bij de aanvraag GGO IM-MV 15-011

Datum: 30 oktober 2015

De milieurisicoanalyse is onder verantwoordelijkheid van het Ministerie van Infrastructuur en Milieu uitgevoerd overeenkomstig bijlage II van de Richtlijn 2001/18/EG inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en het richtsnoer 2002/623/EG ter aanvulling van deze bijlage II. Daarbij is rekening gehouden met de uitwerking op het milieu van de geïntroduceerde organismen en het milieu waarin wordt geïntroduceerd.

De milieurisicobeoordeling neemt zowel directe als indirecte, de onmiddellijk en de vertraagd optredende risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu in beschouwing, die de doelbewuste introductie met zich mee kan brengen. Bij de milieurisicobeoordeling moeten de potentiële schadelijke effecten van geïdentificeerde kenmerken van het GGO worden vergeleken met die van het ongemodificeerde organisme waaruit het GGO is afgeleid. Daarbij worden de omstandigheden van het voorgenomen gebruik in aanmerking genomen. De beoordeling moet per geval worden uitgevoerd, wat betekent dat de vereiste informatie kan verschillen afhankelijk van het betrokken GGO en het voorgenomen gebruik daarvan.

Opgemerkt moet worden dat voor studies met mensen niet primair het risico voor de patiënt wordt getoetst. Deze toets wordt sinds het in werking treden van de Wet medisch wetenschappelijk onderzoek met mensen beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO). Voor studies met dieren geldt dat het welzijn van de dieren en de hiermee verband houdende ethische overwegingen getoetst wordt door de Commissie Biotechnologie bij Dieren (CBD).

De milieurisicoanalyse van de aangevraagde werkzaamheden bestaat uit de volgende delen.

Deel 1 bevat een samenvatting van de gegevens zoals die zijn aangeleverd door de aanvrager. Deze gegevens dienen als basis van de milieurisicoanalyse van het dossier zoals deze volgt uit de kenmerken van de GGO's en de voorgestelde wijze van introductie.

Deel 2 geeft de milieurisicoanalyse voor de introductie in het milieu van het GGO. Hierbij wordt per sequentie bepaald hoe de nieuwe kenmerken van het GGO eventueel schadelijke effecten kunnen hebben voor het milieu.

De milieurisicobeoordeling wordt uitgevoerd conform de Europese Richtlijn 2001/18/EG, volgens de methodologie beschreven in bijlage II van deze Richtlijn. De Richtlijn geeft een overzicht van de kenmerken die beoordeeld moeten worden om de schadelijke gevolgen voor het milieu in kaart te brengen.

De Richtlijn is algemeen gericht op de introductie in het milieu, en niet specifiek bedoeld voor klinisch onderzoek met GGO's bij mens of dier. De Richtlijn bevat daardoor beoordelingskenmerken die voor een GGO voor klinische toepassing niet of minder relevant zijn.

Voordat invulling wordt gegeven aan de milieurisicobeoordeling van een GGO dat toegepast wordt in een klinische studie bij mens of dier wordt een overzicht gegeven van kenmerken uit bijlage II van de Richtlijn die hiervoor relevant worden geacht.

In onderdeel C2 van bijlage II van de Richtlijn wordt een aantal mogelijke schadelijke effecten opgesomd.

Hieronder wordt een kort overzicht gegeven van de in de Richtlijn genoemde aspecten. Hierbij wordt in algemene bewoordingen beschreven of het genoemde kenmerk al dan niet van belang is bij de beoordeling van de werkzaamheden.

In dit document volgt een nadere toelichting op de beoordelingsaspecten waarbij de Richtlijn en de bijbehorende toelichting fungeren als startpunt.

I. Ziekten bij de mens, met inbegrip van allergische en toxische effecten.

Het is van belang na te gaan in hoeverre de toepassing van het GGO kan leiden tot het ontstaan van ziekten. Hierbij moeten de ziekteverwekkende eigenschappen van het GGO worden vergeleken met die van het uitgangsgenoom. Van de meeste ziekteverwekkende organismen is de pathogeniteit bekend. De pathogeniteit van het uitgangsgenoom is een belangrijk uitgangspunt. Omdat de ziekteverwekkende eigenschappen van een GGO niet enkel worden bepaald door de pathogeniteit van het uitgangsgenoom worden ook de genetische modificatie en de toepassing in beschouwing genomen. In de Richtlijn worden diverse beoordelingsaspecten genoemd die de ziekteverwekkende eigenschappen van een GGO kunnen beïnvloeden. Deze beoordelingsaspecten worden later in deze notitie nader toegelicht.

II. Ziekten bij dieren en planten, met inbegrip van allergische en toxische effecten.

Omdat in klinische studies toegepaste GGO's veelal zijn afgeleid van uitgangsgenomen die niet in staat zijn een plantaardige gastheer te infecteren wordt verondersteld dat deze GGO's bij planten geen ziekten kunnen veroorzaken. Mochten er in een voorkomend geval toch overwegingen zijn bij de combinatie gastheer/gekloneerde genen die betrekking hebben op de plantpathogeniteit, dan worden deze alsnog in beschouwing genomen. Voor ziekten bij dieren geldt een overeenkomstige argumentatie als verwoord onder het kopje ziekten bij de mens. In de notitie worden ziekten bij de mens en ziekten bij dieren gezamenlijk behandeld.

III. Effecten op de populatiedynamiek van soorten binnen het milieu en effecten op de genetische diversiteit van elk van die populaties.

Effecten op patiënten of proefdieren die optreden ten gevolge van de toediening van een GGO behoren niet tot het wettelijke kader waarbinnen de milieुरisicobeoordeling wordt uitgevoerd. Effecten op patiënten of proefdieren vallen onder de medische verantwoordelijkheid van de behandelend (dieren)arts en worden in het geval van klinische studies bij mensen beoordeeld door de CCMO. Echter, effecten op mens en dier in de omgeving van patiënt of proefdier (niet doelpopulaties) kunnen afgeleid worden uit de effecten die mogelijk kunnen optreden bij de patiënt / proefdier. Daarom worden effecten op de doelpopulatie in de overwegingen betrokken waarbij vervolgens nagegaan moet worden in hoeverre derden met het GGO in contact komen en als dit het geval is wat de kans is dat effecten optreden.

IV. Gewijzigde gevoeligheid voor ziekteverwekkers, waardoor de verspreiding van besmettelijke ziekten wordt vergemakkelijkt en/of nieuwe reservoirs of vectoren worden gecreëerd.

Gevoeligheid voor ziekteverwekkers is van groot belang bij de beoordeling van genetisch gemodificeerde planten en andere hogere organismen. De gevoeligheid voor ziekteverwekkers van micro-organismen is niet van toepassing bij de beoordeling van genetisch gemodificeerde virussen, virale vectoren en bacteriën.

V. Het in gevaar brengen van preventieve of therapeutische medische en veterinaire behandelingen.

Als voorbeeld noemt de Richtlijn hierbij het in gevaar brengen van preventieve of therapeutische medische, veterinaire of plantenbeschermingsbehandelingen, door het ontstaan van antibioticumresistentie door genoverdracht. Ten aanzien van de genoemde plantbeschermingsbehandelingen gelden dezelfde overwegingen als die werden genoemd in het kader van ziekten bij planten, in paragraaf II. Om deze reden worden effecten op plantenbeschermingsbehandelingen niet in de milieुरisicobeoordeling opgenomen. Het in gevaar brengen van medische en veterinaire behandelingen wordt later uitgewerkt voor specifieke aspecten behorend bij de betreffende studie.

VI. Effecten op biogeochemische cycli.

Met betrekking tot de effecten op biogeochemische cycli moet met name ingegaan worden op recycling van koolstof en stikstof uit organisch materiaal in de bodem. Van een GGO dat in een klinische studie bij mens of dier wordt toegepast kan over het algemeen uitgesloten worden dat zij gedurende langere tijd buiten een gastheer overleven in het milieu. Alleen indien overleving gedurende langere tijd mogelijk is en er een interactie kan plaatsvinden met organismen in de bodem die een rol spelen in deze processen zou dit aspect in de beoordeling van belang moeten zijn. Organismen die toegepast worden in klinische studies die langere tijd overleven buiten een gastheer en een interactie hebben met organismen in de bodem zijn niet eerder toegepast in klinische studies. Bij de beoordeling van de risico's voor mens en milieu van GGO's zal dit beoordelingsaspect over het algemeen niet uitgewerkt worden.

In de bovenstaande onderdelen I tot en met VI wordt een overzicht gegeven van de beoordelingsaspecten zoals deze uit Richtlijn 2001/18/EG zijn afgeleid. Niet alle beschreven onderdelen zijn van belang bij de beoordeling van klinische studies met mensen of dieren. De relevante onderdelen worden hieronder nader uitgewerkt en vertaald naar de beoordelingspraktijk van klinisch onderzoek. Hiertoe zijn sommige onderdelen samengevoegd en wordt toegelicht welke nadere invulling bij de beoordeling aan deze onderdelen gegeven wordt.

Ziekten bij mens en dier

(toelichting op onderdeel I, II en IV)

De onderstaande uitwerking gaat in op de aspecten die van belang zijn voor de beoordeling van de mogelijke schadelijke effecten van een GGO op mens en milieu, waarbij de nadruk ligt op ziekten bij mens en dier.

Uitgangspunt is dat ziekten bij patiënt of proefdier die ten gevolge van toepassing van het GGO kunnen ontstaan in beginsel geen deel uit maken van de beoordeling. Bij de beoordeling wordt wel ingegaan op schadelijke effecten die op kunnen treden bij de patiënt of het proefdier (de 'doelpopulatie'), maar dan alleen omdat de effecten die in de doelpopulatie worden waargenomen indicatief zijn voor effecten die buiten de doelpopulatie kunnen optreden als verspreiding van het GGO in het milieu plaatsvindt. Het is niet vanzelfsprekend dat effecten op de doelpopulatie ook in het milieu kunnen optreden. In dit kader zijn verspreiding in het milieu en blootstelling van derden van belang. Als verspreiding in het milieu en dus blootstelling niet kan plaatsvinden is het zeer onwaarschijnlijk dat de toepassing een gezondheidsrisico vormt voor mens en milieu. In zo'n situatie worden de ziekteverwekkende eigenschappen die eventueel waargenomen worden in de studiepopulatie minder zwaarwegend. Als verspreiding in het milieu en blootstelling kan plaatsvinden dan moet beoordeeld worden welke effecten ten gevolge hiervan kunnen optreden. In zo'n situatie is een effect op de studiepopulatie indicatief.

In het geval dat verspreiding in het milieu en blootstelling niet uitgesloten kan worden, worden verschillende aan de levenscyclus van het GGO verbonden kenmerken in beschouwing genomen. Het betreft de volgende kenmerken: pathogeniteit en virulentie, infectiviteit, gastheerbereik en tropisme, replicatie en transmissie en toxigeniteit en allergeniteit.

Pathogeniteit en virulentie (onderdeel A in Tabel 2)

Pathogeniteit van de uitgangsgenomen vormt een uitgangspunt voor de beoordeling van het pathogene potentieel van een GGO. Pathogenese omvat de mechanismen waarmee organismen zoals bijvoorbeeld virussen of bacteriën bepaalde celpopulaties in een specifieke gastheer en een bepaald weefsel kunnen beschadigen waardoor ziekteverschijnselen in deze gastheer kunnen ontstaan. Het vermogen van een pathogeen organisme om een ziekte te veroorzaken in een gastheer noemt men virulentie. Pathogenese en virulentie zijn twee nauw samenhangende begrippen die bij een beoordeling uitgesplitst worden in verschillende factoren die pathogeniteit en virulentie beïnvloeden. In principe kan alle nieuwe genetische informatie een effect hebben op de pathogeniteit en de virulentie. Om deze reden wordt van een GGO elke toegevoegde dan wel gedeleteerde sequentie bij de beoordeling betrokken.

Infectiviteit (onderdeel A in Tabel 2)

Infectiviteit neemt in de milieurisicobeoordeling van een GGO een belangrijke plaats in. Bij de beoordeling van de mogelijke schadelijke effecten die op kunnen treden in het milieu wordt eerst beoordeeld in hoeverre het GGO eigenschappen bezit die mogelijk een effect hebben in een geïnfecteerde gastheer. Als deze effecten niet geïdentificeerd kunnen worden is de beoordeling van de infectiviteit minder van belang. Als schadelijke effecten op kunnen treden in de patiënt of het proefdier en verspreiding van het GGO in het milieu kan niet uitgesloten worden, dan is beoordeling van de infectiviteit van belang.

Gastheerbereik en tropisme (onderdeel A in Tabel 2)

Wanneer een donorsequentie wordt ingebracht, kan een eiwit tot expressie komen dat een effect heeft op het tropisme en het gastheerbereik van het GGO in vergelijking met gastheerbereik en tropisme van het uitgangsgenome. Dit kan tot gevolg hebben dat het tropisme en het gastheerbereik van het uitgangsgenome veranderen. In gevallen dat een dergelijk scenario niet uitgesloten kan worden, dan moet in de risicobeoordeling rekening gehouden worden met een additioneel risico. Vervolgens moet nagegaan worden of een eiwit dat tot expressie komt ook daadwerkelijk functioneel is in de (virale) vector. Indien niet uitgesloten kan worden dat er een verandering optreedt in het gastheerbereik en tropisme van de vector, zal dit niet automatisch betekenen dat er ook sprake is van een gewijzigde pathogeniteit. Wel moet het risico in beschouwing genomen worden dat mogelijk andere cellen, weefsels, organen of zelfs gastheren geïnfecteerd kunnen worden en hierdoor schadelijke effecten ondervinden die normaal gesproken niet mogelijk zou zijn geweest zonder de toepassing van genetische modificatie.

Replicatie en transmissie (onderdeel A in Tabel 2)

Onder replicatie en transmissie verstaat men respectievelijk vermeerdering en verspreiding. Bij de beoordeling van de risico's voor mens en milieu moet nagegaan worden of het GGO dat aan patiënt of proefdier wordt toegediend kan repliceren. In eerste instantie moet beoordeeld worden of de vector autonoom kan repliceren. De meeste vectoren die worden toegepast in klinische studies zijn replicatiedeficiënt. Replicatiedeficiëntie berust veelal op de afwezigheid van een essentieel genproduct waarvan de sequentie in de vector ontbreekt of niet (functioneel) tot expressie komt. Nagegaan moet worden of de replicatiedeficiëntie kan worden hersteld bijvoorbeeld door homologe recombinatie met in de patiënt aanwezige organismen.

Als replicatie kan optreden moet nagegaan worden of de vector zich kan verspreiden. In dit kader zijn gegevens over biodistributie van belang. Tot slot moet beoordeeld worden via welke transmissieroutes verspreiding in het milieu kan plaatsvinden en in welke mate dit kan plaatsvinden. Verspreiding in het milieu is een noodzakelijke stap op weg naar blootstelling van derden en het milieu. Als schadelijke effecten op kunnen treden in de patiënt of het proefdier en verspreiding van het GGO in het milieu kan niet uitgesloten worden, dan is beoordeling van de replicatie en transmissie van belang.

Toxigeniteit en allergeniteit (onderdeel D in Tabel 2)

Indien verspreiding van het GGO in het milieu kan optreden is het van belang te evalueren welke schadelijke effecten kunnen optreden. Hierbij moet nagegaan worden in hoeverre het GGO schadelijke sequenties bezit en tot expressie kan brengen. Belangrijke ijkpunten hierbij zijn toxiciteit en allergeniteit van het genproduct.

Genoverdracht naar andere organismen (onderdeel C in Tabel 2)

Erfelijke informatie van een GGO kan overgedragen worden op andere in het milieu aanwezige organismen die direct of indirect in contact komen met het GGO. Bij de beoordeling wordt nagegaan in hoeverre erfelijke informatie van het GGO overgedragen kan worden op andere micro-organismen (bijvoorbeeld een aan de vector verwant organisme). Zo'n proces kan plaatsvinden middels homologe recombinatie. Daarnaast moet beoordeeld worden in hoeverre erfelijke informatie van het GGO via de kiembaan overgedragen kan worden op het nageslacht. Overdracht van erfelijke informatie op zichzelf hoeft niet altijd te leiden tot een gevaar voor mens en milieu. Als overdracht kan optreden maar er geen negatieve effecten geïdentificeerd kunnen worden is er geen sprake van een milieurisico.

De overheid heeft besloten dat overdracht via de kiembaan op het nageslacht in alle gevallen voorkomen moet worden, onafhankelijk van de vraag of er daarbij schadelijke effecten kunnen optreden.

Veranderingen van populatiedynamiek in natuurlijke milieu's

(toelichting op onderdeel III)

Genetisch gemodificeerde organismen die in klinische studies toegepast worden kunnen ook een effect hebben op het voorkomen van andere (hogere) organismen en zodoende een effect hebben op de populatiedynamiek. Een illustratief voorbeeld betreft een doelbewuste introductie in het milieu van een virulent myxomavirus in de gevoelige populatie van Europese konijnen in Australië. Aanvankelijk waren de gevolgen desastreus voor de konijnenpopulatie. Maar uiteindelijk ontstonden er virusvarianten met een verminderde virulentie maar ook konijnen met een verhoogde resistentie tegen het virus. Dit voorbeeld illustreert dat een verandering van in de natuur aanwezige micro-organismen ook een effect kan hebben op de gastheer (konijn). Ook een veranderde eigenschap van het gastheerorganisme ten gevolge van genetische modificatie zou een dergelijk effect kunnen veroorzaken. Op deze aspecten wordt, indien het voor de specifieke beoordeling relevant is, ingegaan in onderdeel G van Tabel 2.

Het in gevaar brengen van preventieve of therapeutische behandelmethoden

(toelichting op onderdeel V)

Veranderde eigenschappen van een organisme ten gevolge van genetische modificatie kan mogelijk tot gevolg hebben dat dit organisme ziekte kan veroorzaken. Als hierdoor de op dat moment geldende medische praktijk direct of indirect niet meer toegepast kan worden voor behandeling van deze ziekten, of wanneer preventieve behandeling niet meer werkt is er sprake van een negatief effect voor het milieu. Daarom moet, als vastgesteld wordt dat een GGO mogelijk ziekteverwekkende eigenschappen bezit, in beschouwing genomen worden welke therapeutische behandelmethoden beschikbaar zijn om de ziekte te bestrijden of te voorkomen. Indien de genetische modificatie de therapeutische behandeling van de ziekte bemoeilijkt of zelfs in gevaar brengt, moet dit in de risicobeoordeling meegewogen worden.

Er kan tijdens de beoordeling ook vastgesteld worden dat het ontstaan van ziekte onwaarschijnlijk is, in dat geval kan mogelijk afgezien worden van een beoordeling van de mogelijke effecten op preventieve en therapeutische behandelmethoden. Op deze aspecten wordt ingegaan in onderdeel H van Tabel 2.

In de Richtlijn 2001/18/EG wordt, na de vaststelling van de beoordelingsaspecten, een methodologie voor de risicoanalyse ontwikkeld. Deze methodologie wordt gevolgd in de tabellen in deel 2. De mogelijk schadelijke effecten die samen kunnen hangen met de nieuw ingebrachte sequenties worden toegelicht. Daarbij worden de verschillende stappen in de “oorzaak-gevolg” relaties tussen de genetische modificatie en het eventuele schadelijke effect verduidelijkt. Zo wordt bepaald welke effecten eventueel toe te schrijven zijn aan de genetische modificatie.

Vervolgens volgt de evaluatie van de eventuele omvang en de waarschijnlijkheid van de schadelijke gevolgen. Redenen voor het niet verder in de milieurisicoanalyse beschouwen van mogelijke schadelijke effecten worden verduidelijkt.

In **Deel 3** vindt tenslotte de bepaling van het algehele risico van het GGO plaats.

Deze bepaling wordt gedaan op basis van de risico's die in Deel 2 zijn geïdentificeerd, waarbij rekening wordt gehouden met de mogelijkheid dat er stapeling van risico's plaatsvindt, in het bijzonder als de risico's niet onafhankelijk van elkaar zijn.

Milieurisicoanalyse behorend bij aanvraag IM-MV 15-011

Titel aanvraag: Vaccination of chickens with a herpesvirus of turkey vaccine with inserted the F-gene of Newcastle Disease Virus and the VP2 gene of Infectious Bursal Disease Virus

DEEL 1. KENMERKEN VAN DE IN DEZE AANVRAAG GEBRUIKTE GGO'S EN HUN INTRODUCTIE

Samenvatting van de gegevens zoals die zijn aangeleverd door de aanvrager. Deze gegevens dienen als basis voor de milieurisicoanalyse van de aangevraagde werkzaamheden en bestaan uit de relevante technische en wetenschappelijke details van de GGO's en de voorgestelde wijze van introductie. Hierbij wordt rekening gehouden met de informatievereisten zoals genoemd in bijlage III en in het bijzonder bijlage IIIA van Richtlijn 2001/18/EC. De vindplaats van de informatie in het dossier is tussen haakjes aangegeven. Informatie van bureau GGO is met een asterisk (*) aangegeven.

Het ouderorganisme

1. De Ziekte van Marek is een zeer besmettelijke virale ziekte bij kippen veroorzaakt door het *Marek's Disease virus* (MDV). De ziekte wordt gekarakteriseerd door aanwezigheid van T-cel tumoren en door de infiltratie van zenuwen en organen door lymfocyten*
2. Het MDV virus behoort tot het genus *Mardivirus* binnen de subfamilie *Alphaherpesviridae*. Tot dit genus behoren ook het *Gallid Herpesvirus 3* (GaHV-3 of MDV-2) en het *Herpes virus of turkeys* (HVT). HVT is een kalkoenvirus en wordt geclassificeerd als een niet-oncogeen/pathogeen serotype 3 *Marek's Disease virus* (2.1, 2.4, 2.5, 5.1)*
3. Het HVT FC-126 virus wordt al sinds 1972 gebruikt als kippenvaccin om bescherming te bieden tegen de ziekte van Marek. Van dit HVT vaccin zijn geen nadelige milieueffecten waargenomen (1.3, 2.3)*
4. De natuurlijke verspreidingsroute van HVT is via inhalatie van stofdeeltjes (2.6)
5. HVT komt van nature voor in kalkoenen waarin het geen ziekte veroorzaakt. Infectie van andere vogelsoorten is onwaarschijnlijk en slechts sporadisch waargenomen indien het virus direct was toegediend via injectie (2.3, 2.17, 5.2)
6. In kalkoenen kan het virus repliceren en uitgescheiden worden waardoor andere kalkoenen geïnfecteerd kunnen raken (2.6)*
7. HVT is endemisch in kalkoenen in Nederland (2.3)*
8. Kalkoenen kunnen al op één dag oud worden geïnfecteerd door inademing van besmette stofdeeltjes (2.3)*
9. Het HVT virus replicateert in kalkoenen in longweefsel en kan door cellen van het afweersysteem worden opgenomen. Vervolgens worden witte bloedcellen (lymfocyten) geïnfecteerd en verspreidt het virus zich door het hele lichaam. Uiteindelijk komt het virus in de veerfollikels terecht en wordt het virus uitgescheiden in het milieu (2.6)
10. Het HVT virus kan repliceren in veel verschillende organen en cellen, zoals de longen, witte bloedcellen (type cel van het afweersysteem), de thymus, milt, Bursa van Fabricius (orgaan in vogels waarin bloedcellen, zogenaamde B-cellen, uitrijpen) en veerfollikels (2.3, 2.6, 2.15)*
11. HVT is niet cytolytisch en heeft geen nadelig effect op het functioneren van het afweersysteem van kalkoenen (5.1)
12. Na een infectie kan het HVT virus latent aanwezig blijven in de lymfocyten (2.6)
13. Het virus wordt in de epitheelcellen van veerfollikels geproduceerd, waarna uitscheiding van het virus kan plaatsvinden. Infectieus virus is vaak aanwezig in stof en mest in pluimveehouderijen (2.6)

14. Er zijn geen aanwijzingen dat het HVT virus via het ei (verticale transmissie) verspreid wordt naar nakomelingen*
15. Overleving van het HVT virus in de omgeving is niet bepaald onder veldcondities. Voor MDV serotype 1 virussen is dit wel bepaald. De stabiliteit van het cel-geassocieerde virus is compleet afhankelijk van de levensvatbaarheid van de cellen. Iedere behandeling die de levensvatbaarheid van de cellen beïnvloed, zal direct de infectiviteit van het virus beperken. Cel-vrij MDV, vrijgekomen via veerfollikels, aanwezig in veerstof, strooisel en mest is veel langer stabiel. Bij kamertemperatuur blijft het virus 4-8 maanden infectieus. Het virus is gevoelig voor een hoge temperatuur en overleving van het virus kan negatief beïnvloed worden door toegenomen luchtvochtigheid (2.7)
16. In kippen kan het HVT virus repliceren en kan het tijdelijk in geringe hoeveelheden uitgescheiden worden. Onder normale natuurlijke omstandigheden, waarbij het virus door geïnfecteerde dieren via de veerfollikels uitgescheiden wordt en via inhalatie in andere dieren mogelijk terecht komt, is het zeer onwaarschijnlijk dat het virus andere kippen kan infecteren (2.6, 5.2)
17. Het HVT virus kan ook in kippen witte bloedcellen en veerfollikels infecteren, maar veroorzaakt geen ziekte (2.3, 2.4, 2.5)
18. Het HVT virus is een niet pathogeen virus en veroorzaakt geen ziekte in kippen, kalkoenen en ander gevogelte (2.4, 2.5)
19. Verspreiding van HVT naar kippen via de natuurlijke route (inhalatie van stofdeeltjes) is zeer onwaarschijnlijk en is alleen aangetoond onder experimentele condities. Onder normale natuurlijke omstandigheden is verspreiding niet te verwachten omdat uitscheiding via de veerfollikels in kippen gelimiteerd en van voorbijgaande aard is (2.17, 5.2)
20. In de literatuur is beschreven dat zoogdiercellen niet geïnfecteerd kunnen worden door HVT. Ook in pasgeboren hamsters, resusapen en marmoset apen kan HVT *in vivo* niet repliceren*

B. De genetische modificatie:

21. Het gebruikte uitgangsvirus is het HVT virus, stam FC-126 (2.1, 2.8)
22. In de HVT vector is een gen gekloneerd van het *Newcastle disease virus* (NDV) dat codeert voor het F eiwit en een gen gekloneerd van het *Infectious Bursal Disease Virus* (IBDV) dat codeert voor het VP2 eiwit, resulterend in de vector HVT-ND-IBD (2.8)
23. Het IBD virus veroorzaakt een zeer besmettelijke infectie in jonge kippen. Geïnfecteerde dieren kunnen ziek worden met soms dodelijke afloop. IBDV is een dubbelstrengs RNA virus en repliceert in de Bursa van Fabricius (2.11, aanvullende informatie 17-09-2015)*
24. Het ND virus veroorzaakt een zeer besmettelijke infectie in vogels, waaronder kippen en kalkoenen. Afhankelijk van de stam kunnen geïnfecteerde dieren een milde infectie ondergaan of ernstig ziek worden met een veelal dodelijke afloop (> 90% mortaliteit). NDV is een enkelstrengs RNA virus en kan aangetroffen worden in weefsels van het respiratoire-, darm- en zenuwstelsel (2.11, aanvullende informatie 17-09-2015)*
25. De HVT uitgangsvector bestaat uit een Unique Long (unieke lange, UL) en een Unique Short (unieke korte, US) regio geflankeerd door Terminal Repeats Long en Short (terminale lange en korte herhalingen, TRL en TRS), en een Internal Repeats Long en Short (interne lange en korte herhalingen, IRL en IRS). De insertie van beide genen is in het US2 gen, een gen waarvan de exacte functie onbekend is. Verstoring van dit ORF heeft geen effect op de biologische eigenschappen van het virus (2.11)*
26. Insertie van de expressiecassette verstoort het US2 ORF. Dit resulteert in een gedeeltelijk ORF aan de 5' kant van 124 aminozuren, waarbij het leesraam is gefuseerd met 50 aminozuren in de geïnserteerde regio. In theorie kan dit ORF tot expressie komen. Het is echter niet de verwachting dat dit functioneel is. De 3' kant van het US2 ORF is niet gefuseerd met andere sequenties en kan resulteren in een gedeeltelijk US eiwit van 116 aminozuren. Mocht dit gedeeltelijke ORF al tot expressie komen, dan is het niet de verwachting dat dit functioneel is (2.11).
27. Het VP2 gen van IBDV codeert voor het capsid eiwit VP2 (2.11)

28. Het F gen van het NDV codeert voor het fusie eiwit F. Dit eiwit is een van de twee glycoproteïnen die betrokken zijn bij virus binding en fusie met het gastheermembraan (2.11)
29. De VP2 en F genen worden gereguleerd door heterologe virale promotoren en polyadenyleringsignalen afkomstig van *cytomegalovirus* en *simian virus 40* (SV40) (2.11)

Tabel 1. Vaststelling van de bij de genetische modificatie ingebrachte of verwijderde sequenties

Coderende en regulatoire sequenties gebruikt voor genetische modificatie	Herkomst	Plaats in de vector	Aanwezigheid in patiënt of proefdier
promotor	heterologous virus	insertiesite US2	Zorgt voor regulatie van expressie
VP2	<i>infectious bursal disease virus</i>	insertiesite US2	Zorgt voor immuun response tegen IBDV
terminator	heterologous virus	insertiesite US2	Zorgt voor regulatie van expressie
promotor	heterologous virus	insertiesite US2	Zorgt voor regulatie van expressie
F	<i>Newcastle disease virus</i>	insertiesite US2	Zorgt voor immuun response tegen NDV
terminator	heterologous virus	insertiesite US2	Zorgt voor regulatie van expressie

C. Het GGO:

30. Het vaccin bestaat uit fibroblasten (geïsoleerd uit kippenembryo's), die geïnfecteerd zijn met het HVT-ND-IBD virus (1.3)
31. De HVT-ND-IBD vector wordt opgekweekt in embryonale kippen fibroblasten, zogenoemde 'chicken embryo fibroblasts' (CEF). Dit zijn primaire cellen uit een specific pathogen free (SPF) kippenembryo van 10-11 dagen oud (2.13)
32. Deze SPF kippenembryo's zijn vrij van onder andere IBDV, NDV en Marek's disease virussen. Hierop wordt getest volgens de European Pharmacopoeia monografie 2.6.25. Hierdoor is de kans op recombinatie tussen het GGO en verwante virussen verwaarloosbaar klein (2.13, 3.3)
33. Indien wildtype HVT aanwezig is in de met HVT-ND-IBD gevaccineerde kippen is er een theoretische kans op recombinatie. In het onwaarschijnlijke geval dat HVT aanwezig is in kippen zal een eventuele recombinatie slechts leiden tot het verlies van de geïnserteerde genen en het ontstaan van wildtype HVT. Het risico op schadelijke effecten is verwaarloosbaar klein aangezien HVT niet pathogeen is*
34. Gevaccineerde kippen kunnen geïnfecteerd raken met MDV, waardoor recombinatie tussen HVT-ND-IBD en MDV mogelijk is. Het HVT virus wordt al sinds 1972 gebruikt als kippenvaccin. Ondanks tientallen jaren van intensieve pluimveehouderij en co-infectie van

commercieel pluimvee met MDV1, MDV2 en HVT is recombinatie tussen deze herpesvirussen nooit gerapporteerd. De kans op recombinatie tussen het GGO en MDV zal niet groter zijn dan tussen HVT en MDV omdat de IBDV en NDV inserties geen sequentie homologie vertonen met MDV. Het risico van recombinatie tussen het GGO en MDV is verwaarloosbaar klein (2.3, 5.1)*

35. Het geïnserteerde F gen van NDV kan mogelijk recombineren met het overeenkomstige gen in NDV. Dit is zeer onwaarschijnlijk omdat NDV weefsels van het respiratoire-, darm- en zenuwstelsel infecteert, terwijl het HVT virus en ook het GGO, lymfocyten infecteert. Het weefsel-tropisme van het GGO is immers ten opzichte van de uitgangsvector HVT niet veranderd. Voor recombinatie dienen beide virussen, het GGO en NDV, in dezelfde cel aanwezig te zijn. Bovendien is NDV een enkelstrengs RNA virus dat repliceert in het cytoplasma en HVT en het GGO zijn DNA virussen die repliceren in de kern, waardoor recombinatie tussen NDV en het GGO zeer onwaarschijnlijk is. In het onwaarschijnlijk geval van recombinatie zullen de eigenschappen van NDV niet veranderen door recombinatie met het NDV gen uit het GGO. Het risico van recombinatie tussen het GGO en NDV is daarom verwaarloosbaar klein (aanvullende informatie 17-09-2015)
36. Het geïnserteerde VP2 gen van IBDV kan mogelijk recombineren met het overeenkomstige gen in IBDV. IBDV infecteert cellen van de Bursa van Fabricius en HVT, en ook het GGO, infecteert lymfocyten, waardoor de kans dat beide virussen in dezelfde cel aanwezig zijn niet uitgesloten kan worden. Echter, IBDV is een dubbelstrengs RNA virus dat repliceert in het cytoplasma en HVT en het GGO zijn DNA virussen die repliceren in de kern, waardoor recombinatie tussen IBDV en het GGO zeer onwaarschijnlijk is. In het onwaarschijnlijk geval van recombinatie zullen de eigenschappen van IBDV niet veranderen door recombinatie met het IBDV gen uit het GGO. Het risico van recombinatie tussen het GGO en IBDV is daarom verwaarloosbaar klein (aanvullende informatie 17-09-2015)
37. De geïnserteerde promoter en regulatoire sequenties van cytomegalovirus en SV40 kunnen mogelijk recombineren met overeenkomstige sequenties in cytomegalovirussen en SV40. Het gastheerbereik van cytomegalovirussen en SV40 is echter beperkt en deze virussen komen niet voor in vogels. Het risico van recombinatie tussen het GGO en cytomegalovirus of SV40 is daarom verwaarloosbaar klein (aanvullende informatie 17-09-2015)
38. Het GGO kan door gevaccineerde kippen uitgescheiden worden via de veerfollikels en kan dan via stof in het milieu terecht komen. Opgedwarreld stof kan zich als een aerosol gedragen (5.2)*
39. De kans dat kippen en ander gevogelte, behalve kalkoenen, via deze natuurlijke weg geïnfecteerd raken met het GGO is zeer klein en verspreiding zal dus niet of nauwelijks plaatsvinden (2.3, 5.2)
40. De gekloneerde IBDV en NDV genen leiden niet tot verandering van virulentie en weefsel-tropisme van de uitgangsvector. Echter, de hoeveelheid virus in de veerfollikels is gereduceerd voor kippen gevaccineerd met HVT-ND-IBD ten opzichte van kippen gevaccineerd met de uitgangsvector HVT (2.15, 2.17, 5.1)
41. Het GGO is alleen infectieus voor kalkoenen, maar veroorzaakt daarin geen ziekte. Studies hebben aangetoond dat de virulentie en het weefsel-tropisme van het GGO niet veranderd zijn ten opzichte van de uitgangsvector (2.16, 5.1, aanvullende informatie 17-09-2015)

D. Milieugerelateerde gegevens afkomstig uit eerdere experimenten:

42. Studies in kippen hebben aangetoond dat het weefsel-tropisme van HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT niet veranderd is. De hoeveelheid virus in de veerfollikels is gereduceerd voor HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT (2.15, 5.1)
43. Studies in kalkoenen hebben aangetoond dat subcutane injectie van HVT-ND-IBD niet leidt tot klinische symptomen, daarmee aantonend dat het vaccin veilig is voor kalkoenen (2.16)

44. Resultaten uit een eerdere studie laten zien dat het HVT-ND-IBD vaccin veilig is voor kippen. Kippen werden gevaccineerd met HVT-ND-IBD en controle kippen werden geïnjecteerd met oplosmiddel via de subcutane route. Veiligheidsevaluaties lieten geen verschil zien tussen de beide groepen tot 21 dagen na vaccinatie. Gelijke mortaliteitscijfers, voedselinname, gewicht en de afwezigheid van klinische symptomen voor vogels in beide groepen tonen aan dat vaccinatie van kippen met HVT-ND-IBD veilig is (5.1)
45. Studies met Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, in duiven, eenden en kalkoenen tonen aan dat het gastheerbereik van Innovax-ND hetzelfde is als van de uitgangsvector HVT. Beide virussen kunnen repliceren in kalkoenen en geven geen klinische symptomen. In duiven en eenden kunnen beide virussen niet repliceren (aanvullende informatie 17-09-2015)
46. Innovax-ND is sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin (aanvullende informatie 17-09-2015)
47. Studies met Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, in duiven, fazanten, eenden, kwartels en patrijzen tonen aan dat geen klinische symptomen werden waargenomen in deze vogelsoorten (aanvullende informatie 17-09-2015)
48. Vaxxitek HVT-IBD is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt (aanvullende informatie 17-09-2015)
49. De veiligheid van Innovax-ILT, een HVT recombinant welke de gD en gI genen van infectious laryngotracheitis virus (ILTV) bevat, is vergeleken met het uitgangsvirus HVT FC-126. Deze studies laten zien dat het vaccin veilig is in kippen en dat het weefseltropisme vergelijkbaar is voor Innovax-ILT en HVT in kippen. Evenals voor HVT-ND-IBD is de hoeveelheid virus in de veerfollikels gereduceerd voor Innovax-ILT ten opzichte van de uitgangsvector HVT (5.1)
50. Innovax-ILT is een vaccin dat al buiten de EU is geregistreerd en wordt gebruikt voor de vaccinatie van legkippen tegen infectie met ILTV. In de periode 2007 tot 2010 zijn wereldwijd ongeveer 1,13 miljard dosis Innovax-ILT verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin (5.1)*

E. Proefdiergebonden aspecten:

51. Het doel van de studie is de veiligheid en werkzaamheid van het HVT-ND-IBD vaccin te onderzoeken onder veldomstandigheden (1.2)
52. Het algemene doel is het ontwikkelen van een vaccin tegen ND, IBD en de ziekte van Marek bij kippen (1.3)
53. De vaccinatiewerkzaamheden en monsternamen zullen plaatsvinden op een conventionele pluimveehouderij in Oeffelt, gemeente Boxmeer en op een conventionele boerderij met pluimvee en rundvee in Aalten, gemeente Aalten (1.10)
54. De verwerking van de monsters en studies naar de werkzaamheid van HVT-ND-IBD zullen plaatsvinden in laboratoria van Intervet in de gemeente Boxmeer. Deze werkzaamheden vinden plaats onder ingeperkt gebruik (IG) vergunning IG 98-085 (1.4, 4.7)
55. Maximaal 60.000 proefdieren zullen eenmalig met het HVT-ND-IBD vaccin (1×10^3 - $1 \times 10^{4.6}$ plaque forming units (pfu) per dosering) gevaccineerd worden (4.1, 4.4)
56. Het vaccin zal aan kuikens van een dag oud worden toegediend via een subcutane injectie in de nek of in ovo aan 18 dagen oude geëmbryoneerde eieren gebruik makende van een in ovo vaccinator. Voor beide vaccinatie methodes wordt gebruik gemaakt van standaard vaccinatie apparatuur en technieken (4.3)
57. De proefdieren zullen tweemaal, op een leeftijd van 1 dag en 14-18 dagen, gevaccineerd worden met een levend verzwakt vaccin tegen infectieus bronchitis virus (IBV). Gelijktijdige toediening van een levend IBV vaccin en een vaccin tegen Marek's disease, waaronder HVT FC-126, is algemeen gebruik in het veld. Er zijn geen interacties tussen de IBV en Marek's disease vaccins aangetoond en er zijn geen

homologe sequenties aanwezig tussen het GGO en het IBV vaccin. Het risico van recombinatie tussen het GGO en het IBV vaccin is daarom verwaarloosbaar klein (4.5, 5.2)

58. Halverwege de studie (ongeveer 21-24 dagen na vaccinatie) en aan het einde van de studie zullen van de gevaccineerde kippen via een bloedvat in de nek of vleugel bloedmonsters worden genomen waarin het GGO aanwezig zou kunnen zijn (4.6, 4.7)
59. De bloedmonsters zullen in bio-containers worden vervoerd naar Intervet in de gemeente Boxmeer conform bijlage 1 van de Regeling GGO 2013. Bewerking van de bloedmonsters vindt plaats onder ingeperkt gebruik (IG) vergunning IG 98-085 (4.7)
60. Verspreiding van het GGO in de stal kan plaatsvinden via het morsen van bloed tijdens de bloedafname (4.7)
61. Binnen een straal van minimaal 5 km rond de twee stallen worden geen kalkoenen gehouden. Na beëindiging van de studie zullen in de betreffende stallen gedurende 6 maanden geen kalkoenen gehouden worden (aanvullende informatie 17-09-2015)

F. Informatie over plannen voor beheersing, controle, follow-up en afvalbehandeling:

62. De einddatum voor de experimenten is 31 december 2018 (1.5)
63. De gevaccineerde kippen worden gehuisvest in een stal die gangbaar is voor pluimveebedrijven. In de stal zal geen pluimvee aanwezig zijn dat geen deel uitmaakt van het experiment (5.7)
64. Er zullen geen speciale selectiecriteria gehanteerd worden bij de selectie van de proefdieren (5.6)
65. Transport van het GGO naar de pluimveebedrijven vindt plaats conform bijlage 1 van de regeling GGO 2013 (aanvullende informatie 17-09-2015)
66. Preparatie van het GGO vindt plaats in de hygiënesluis. Ampullen met het GGO worden uit een vat met vloeibare stikstof gehaald, ontdooid en het GGO wordt verdund in oplosmiddel met behulp van een spuit met naald (aanvullende informatie 17-09-2015)
67. Gedurende vaccin preparatie en toediening dragen de medewerkers handschoenen, een veiligheidsbril en een overall (4.3)
68. Een aantal gevaccineerde kippen zal vanaf de proeflocaties getransporteerd worden naar de locatie van Intervet in Boxmeer conform bijlage 1 van de regeling GGO 2013. De dieren zullen in afsluitbare boxen vervoerd worden met ventilatieopeningen die voorzien zijn van een filter (5.7)
69. De werkzaamheid van het vaccin zal getest worden door de gevaccineerde kippen te infecteren met NDV, IBDV en/of Marek's Disease virus. Deze activiteiten vinden plaats onder ingeperkt gebruik vergunning IG 98-085 (1.4, aanvullende informatie 17-09-2015)
70. Aan het einde van de proef, maximaal 10 weken na vaccinatie, zullen alle gevaccineerde dieren geëuthanaseerd worden en ter destructie worden aangeboden. De kadavers worden verzameld in containers en als categorie 1 materiaal ter destructie aangeboden aan Rendac. Categorie 1 materiaal is niet voor dierlijke of menselijk consumptie geschikt en zal als zodanig worden vernietigd (1.4, 5.8, aanvullende informatie 17-09-2015)*
71. De studie betreft vaccinatie van slachtkuikens. De gevaccineerde slachtkuikens zullen geen eieren leggen op de pluimveebedrijven. (aanvullende informatie 17-09-2015)
72. Voor de vaccinatieproeven worden voorzorgsmaatregelen getroffen om direct en indirect contact tussen gevaccineerde kippen en kalkoenen of andere vogelsoorten te voorkomen. De dieren worden gehouden volgens standaard bedrijfsvoering wat onder andere inhoudt dat: de stal afgesloten is voor onbevoegden, alle (ventilatie)openingen afgesloten zijn met gaas zodat geen vogels naar binnen kunnen, een logboek voor bezoekers wordt bijgehouden en een hygiënesluis aanwezig is waarin kleding en schoeisel gewisseld worden (5.5, 5.8, aanvullende informatie 17-09-2015)

73. Kadavers van de gevaccineerde kippen die tijdens de studie overlijden zullen als categorie 1 materiaal worden afgevoerd voor destructie en komen niet in de voedselketen terecht (4.9, aanvullende informatie 17-09-2015)
74. Mest en strooisel zullen worden getransporteerd in gesloten containers en vervoerd worden naar een mestverbrandingsfabriek voor verbranding (4.9)
75. Na verwijdering van de mest en strooisel wordt de ruimte waarin de kippen werden gehouden gereinigd en ontsmet met een desinfectans dat effectief is tegen microbiële agentia, waaronder virussen (4.9)
76. Het afvalwater geproduceerd gedurende de studie en het door de reiniging van de stal ontstane afvalwater zal worden opgevangen in de mestkelder. De inhoud van de mestkelder zal, indien gewenst, bij de kippenhouder worden uitgereden op het land. De kans is aanwezig dat het afvalwater een geringe hoeveelheid GGO zal bevatten en dat dit via deze weg in het milieu zal terechtkomen (4.9, aanvullende informatie 17-09-2015)

G. Productie en Batch:

77. Productie van het vaccin vindt plaats bij Merck/MSD Animal Health in de Bilt, Nederland onder ingeperkt gebruik (IG) vergunning IG 13-012 (3.1)
78. Het vaccin bestaat uit CEF's die geïnfecteerd zijn met het GGO. De titer in plaque forming units (pfu) wordt bepaald door seriële verdunningen op embryonale kippen fibroblasten uit te zetten zodat infectie kan plaatsvinden. Eén enkel geïnfecteerde CEF uit het vaccin kan een kippen fibroblast infecteren. Vervolgens worden buurcellen geïnfecteerd door cel-naar-cel infectie. Geïnfecteerde cellen vormen een plaque welke maatgevend is voor de titer (1.3, 3.3, aanvullende informatie 17-09-2015)*
79. Er vindt controle plaats op het ontstaan van cytopatisch effect (CPE) en het vulvolume van de ampullen. Een batch van HVT-ND-IBD wordt volgens de Europese normen vrijgegeven, waarbij iedere batch gecontroleerd wordt op de steriliteit, aanwezigheid van mycoplasma en verontreinigingen (extraneous agents). Een batch wordt vrijgegeven indien deze steriel is en vrij is van mycoplasma en extraneous agents, waaronder egg drop virus, turkey rhinotracheitis virus, chicken anaemia virus, duck enteritis virus en duck and goose parvovirus. Tevens wordt de titer bepaald en de identiteit gecontroleerd. Voor vrijgifte zal de identiteit moeten zijn bevestigd (3.2, 3.3)



DEEL 2. MILIEURISICOANALYSE VAN DE AANGEVRAAGDE WERKZAAMHEDEN

Per sequentie wordt geïnventariseerd welke nieuwe eigenschappen en effecten mogelijk het gevolg zijn van de nieuw ingebrachte sequenties. De “oorzaak-gevolg” relaties tussen de genetische modificatie en het eventuele schadelijke effect worden verduidelijkt. Daarna volgt de evaluatie van de eventuele gevolgen en de waarschijnlijkheid. De milieurisicoanalyse van de aangevraagde werkzaamheden wordt afgesloten met een deelrisicoschatting per eigenschap en sequentie.

Tabel 2.1 milieurisicoanalyse van de regulerende sequenties (heterologe virale promotoren en polyadenyleringsignalen afkomstig van *cytomegalovirus* en *simian virus 40*):

Zoals uit de tabel blijkt gaat het hier om indirecte effecten. Daarom wordt voor deze tabel niet de gebruikelijke indeling gevolgd in de beoordelingsaspecten A – H, die wel relevant is in Tabel 2.2.

Bepaling van eigenschappen die schadelijke effecten kunnen hebben <i>(Identificatie en toelichting “oorzaak-gevolg” relaties)</i>	Evaluatie van de mogelijke gevolgen van elk schadelijk effect, indien dit optreedt, en evaluatie van de waarschijnlijkheid van het optreden <i>(rekening houdend met de wijze van introductie en het introductie milieu)</i>	Schatting van het risico dat aan de betreffende eigenschap van het GGO verbonden is
<p>De promoter heeft een functie bij de regulatie van de genexpressie. Een promoter is een specifieke DNA sequentie waaraan RNA polymerase kan binden om vervolgens stroomafwaarts gelegen coderende sequenties af te lezen. Een promoter op zichzelf kan geen schadelijk effect veroorzaken. Echter, de mate waarin een promoter actief is, is van invloed op de mate van expressie van genen die door de promoter worden gereguleerd. De mate van activiteit van een promoter kan afhankelijk zijn van de omstandigheden. Een constitutieve promoter heeft een vaste mate van activiteit, die niet of nauwelijks wordt veranderd door de omstandigheden. Bij een induceerbare promoter wordt de activiteit bepaald door de aan- of afwezigheid van signaalstoffen in de cel. De activiteit van een promoter kan ook afhankelijk zijn van het cel- of weefseltype waarin de promoter zich bevindt. Polyadenyleringsignalen spelen een rol bij de translatie van het messenger RNA (mRNA) en beschermen het mRNA tegen afbraak.</p> <p>De expressie van de NDV F en IBDV VP2 genen wordt gereguleerd door heterologe virale promotoren en polyadenyleringsignalen afkomstig van cytomegalovirus en simian virus 40. Of de mate van expressie en het</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijk gevolgen, indien ze optreden De schadelijke effecten die op kunnen treden als gevolg van de aanwezigheid van de expressie regulerende sequenties kunnen alleen worden geëvalueerd in relatie tot de schadelijke effecten van de genproducten (NDV F en IBDV VP2). De mate van expressie en het expressiepatroon van deze genen wordt gereguleerd door deze regulerende sequenties.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect Eventuele geïdentificeerde schadelijke effecten zullen constitutief op kunnen treden in alle delende cel- en weefseltypen.</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: De mogelijke gevolgen zijn afhankelijk van de uitkomst van de risicoanalyse van de genproducten (NDV F en IBDV VP2) (zie tabel 2.2), rekening houdende met het verwachte expressiepatroon.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: Eventuele geïdentificeerde schadelijke effecten zullen constitutief optreden in alle delende cel- en weefseltypen.</p> <p>III. Het risico: Het risico wordt bepaald door de uitkomst van de risicoanalyse van de genproducten (NDV F en IBDV VP2) (tabel 2.2).</p>



expressiepatroon van een promoter een schadelijk effect heeft wordt niet direct door een promoter veroorzaakt, maar alleen door het genproduct dat door de promoter tot expressie komt.		
---	--	--



Tabel 2.2 milieurisicoanalyse van de genetisch gemodificeerde *Herpes virus of turkeys* vector (*HVT virus, stam FC-126, met geïnserteerde NDV en IBDV genen*):

Bepaling van eigenschappen die schadelijke effecten kunnen hebben <i>(Identificatie en toelichting "oorzaak-gevolg" relaties)</i>	Evaluatie van de mogelijke gevolgen van elk schadelijk effect, indien dit optreedt, en evaluatie van de waarschijnlijkheid van het optreden <i>(rekening houdend met de wijze van introductie en het introductie milieu)</i>	Schatting van het risico dat aan de betreffende eigenschap van het GGO verbonden is
A. Persistentie en invasiviteit		
<p>Bij de bepaling van het milieurisico van veranderde persistentie en invasiviteit van een GGO toegepast in medisch en veterinair onderzoek gaat het om de bepaling van mogelijke effecten van de genetische modificatie op het gastheerbereik, de infectiviteit, en de pathogeniteit en virulentie voor potentiële gastheren (mensen en dieren) in het milieu.</p> <p>Van een hogere persistentie en invasiviteit van een virale vector (i.e. het GGO) ten opzichte van het natuurlijk voorkomende wildtype virus waarvan het is afgeleid, kan sprake zijn indien het GGO na toediening aan een proefdier langer dan het wildtype virus in een actieve vorm aanwezig kan blijven, en er vervolgens shedding kan plaatsvinden van infectieuze deeltjes. Deze shedding kan leiden tot infectie van andere organismen.</p> <p>Daarbij moet in beschouwing genomen worden dat het GGO door de genetische modificatie veranderd kan zijn in zijn weefseltropisme, gastheerbereik, en in de mate van infectiviteit en virulentie. Hierbij spelen onder andere de mogelijkheden voor replicatie en transmissie een rol.</p> <p>Deze veranderingen kunnen leiden tot een gewijzigd ziektebeeld in gastheren die vatbaar zijn voor infectie door het wildtype virus, of tot uitbreiding van de ziekte naar nieuwe gastheren.</p> <p>De gebruikte vaccinvector HVT komt van nature voor in kalkoenen waarin het geen ziekte veroorzaakt. In kalkoenen kan het virus repliceren en uitgescheiden worden waardoor andere kalkoenen geïnfecteerd kunnen raken. HVT wordt geclassificeerd als een niet-oncogeen/pathogeen serotype 3 <i>Marek's Disease virus</i>. HVT wordt al sinds 1972 gebruikt als kippenvaccin om bescherming te bieden tegen de ziekte van</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt</p> <p>De Ziekte van Marek is een zeer besmettelijke virale ziekte bij kippen veroorzaakt door het <i>Marek's Disease virus</i> (MDV). De ziekte wordt gekarakteriseerd door aanwezigheid van T-cel tumoren en door de infiltratie van zenuwen en organen door lymfocyten. Het MDV virus behoort tot het genus <i>Mardivirus</i>. Tot dit genus behoort ook het <i>Herpes virus of turkeys</i> (HVT). HVT is een kalkoenvirus en wordt geclassificeerd als een niet-oncogeen/pathogeen serotype 3 <i>Marek's Disease virus</i>. HVT veroorzaakt geen ziekte in kippen, kalkoenen en ander vogelgelte.</p> <p>HVT is endemisch in kalkoenen in Nederland. Kalkoenen kunnen al op één dag oud worden geïnfecteerd door inademing van besmette stofdeeltjes. Het HVT virus kan onder meer repliceren in de longen, witte bloedcellen, de thymus, milt, Bursa van Fabricius en veerfollikels. In de longen kan het HVT virus door cellen van het afweersysteem worden opgenomen. Vervolgens worden witte bloedcellen (lymfocyten) geïnfecteerd en verspreidt het virus zich door het hele lichaam. Na een infectie kan het HVT virus latent aanwezig blijven in de lymfocyten. Uiteindelijk komt het virus in de veerfollikels terecht van waaruit verspreiding naar andere dieren plaats kan vinden. Het virus kan via deze natuurlijke verspreidingsroute van inhalatie alleen kalkoenen infecteren. Infectie van andere vogelsoorten is onwaarschijnlijk en slechts sporadisch waargenomen indien het virus direct was toegediend via injectie. In kippen kan het HVT virus repliceren en kan het tijdelijk in geringe hoeveelheden uitgescheiden worden. Onder normale natuurlijke omstandigheden, waarbij het virus door geïnfecteerde dieren via de veerfollikels uitgescheiden wordt</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen:</p> <p>De inserties van de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT kunnen niet leiden tot het optreden van (schadelijke) effecten ten gevolge van een verhoogde persistentie of invasiviteit.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid:</p> <p>De waarschijnlijkheid dat HVT-ND-IBD waarbij de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geïnserteerd zijn, leidt tot een verandering in persistentie en/of invasiviteit in vergelijking tot het wildtype HVT is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico:</p> <p>Het risico van verhoging van de persistentie of de invasiviteit bij toepassing van HVT-ND-IBD is verwaarloosbaar klein.</p>



<p>Marek. Ook in kippen is HVT apathogeen.</p> <p>In de HVT vector is een gen gekloneerd van het <i>Newcastle disease virus</i> (NDV) dat codeert voor het F eiwit en een gen gekloneerd van het <i>Infectious Bursal Disease Virus</i> (IBDV) dat codeert voor het VP2 eiwit, resulterend in de vector HVT-ND-IBD. Het VP2 gen van IBDV codeert voor het capsid eiwit VP2. Het F gen van het NDV codeert voor het fusie eiwit F. Dit eiwit is een van de twee glycoproteïnen die betrokken zijn bij virus binding en fusie met het gastheer membraan. Het vaccin (HVT-ND-IBD) bestaat uit fibroblasten, die geïsoleerd zijn uit een kippenembryo, welke geïnfecteerd zijn met het recombinant HVT virus. Hierbij is het de vraag of de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT leiden tot een verandering in persistentie en/of invasiviteit in vergelijking tot het wildtype HVT.</p>	<p>en via inhalatie in andere dieren mogelijk terecht komt, is het zeer onwaarschijnlijk dat het virus andere kippen kan infecteren.</p> <p>Het vaccin (HVT-ND-IBD) wordt gebruikt voor de vaccinatie van kippen tegen infectie met MDV, NDV en IBDV en bevat het F gen van NDV en het VP2 gen van IBDV.</p> <p>Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, is sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin.</p> <p>Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect</p> <p>HVT-ND-IBD kan voorkomen en repliceren in kalkoenen en door infectie of via vaccinatie kan het GGO ook in kippen repliceren. De gekloneerde IBDV en NDV genen leiden niet tot verandering van virulentie en weefsel tropisme van de uitgangsvector.</p> <p>Studies in kippen hebben aangetoond dat het weefsel tropisme van HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT niet veranderd is. De hoeveelheid virus in de veerfollikels is gereduceerd voor HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT. Studies in kalkoenen en kippen hebben aangetoond dat subcutane injectie van HVT-ND-IBD niet leidt tot klinische symptomen, daarmee aantonend dat het vaccin veilig is voor kalkoenen en kippen.</p> <p>Studies met Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, in duiven, eenden en kalkoenen tonen aan dat het gastheerbereik van Innovax-ND hetzelfde is als van de uitgangsvector HVT. Beide virussen kunnen repliceren in kalkoenen en geven geen klinische symptomen. In duiven en eenden kunnen beide virussen niet repliceren.</p> <p>Studies met Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, in duiven, fazanten, eenden, kwartels en patrijzen tonen aan dat geen klinische symptomen werden waargenomen in deze vogelsoorten.</p> <p>De waarschijnlijkheid dat de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT leiden tot een verandering in persistentie en/of invasiviteit in vergelijking tot het wildtype HVT is derhalve verwaarloosbaar klein.</p>	
B. Selectieve voordelen		
Voor de milieurisicoanalyse van een GGO toegepast in medisch of veterinair onderzoek zijn die selectieve voordelen	I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt	I. Mogelijke gevolgen: De inserties van de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom



<p>relevant die leiden tot verhoogde persistentie en invasiviteit. De oorzaak-gevolg relaties die hierbij een rol spelen zijn behandeld onder A.</p> <p>Het vaccin (HVT-ND-IBD) bestaat uit fibroblasten, die geïsoleerd zijn uit een kippenembryo, die geïnfecteerd zijn met het recombinant HVT virus. Hierbij is het de vraag of de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT leiden tot een selectief voordeel dat een verandering geeft in weefseltropisme, gastheerbereik en de mate van infectiviteit en virulente in vergelijking tot het wildtype HVT.</p>	<p>Evenals onder A geldt dat er geen schadelijke effecten, zoals verhoogde persistentie of invasiviteit, of een uitbreiding van het gastheerbereik van HVT door insertie van de NDV F en IBDV VP2 genen geïdentificeerd zijn.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect Zoals reeds is aangegeven onder onderdeel A van deze tabel, is het onwaarschijnlijk dat de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT leiden tot een verandering in persistentie en/of invasiviteit in vergelijking tot het wildtype HVT. Een toegenomen virulentie en het optreden van een mogelijk schadelijk effect is dan ook zeer onwaarschijnlijk.</p>	<p>van HVT kunnen niet leiden tot het optreden van (schadelijke) effecten ten gevolge van een verhoogde persistentie of invasiviteit.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De waarschijnlijkheid dat HVT-ND-IBD waarbij de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geïnserteerd zijn, leidt tot selectieve voordelen in vergelijking tot het wildtype HVT is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico: Het risico van selectieve voordelen bij toepassing van HVT-ND-IBD is verwaarloosbaar klein.</p>
C. Kans op genoverdracht op andere soorten en de kans dat hierdoor selectieve voor- of nadelen op deze soorten worden overgedragen		
<p>Van genoverdracht op andere soorten kan alleen sprake zijn indien (homologe) recombinatie heeft plaatsgevonden. Op de eerste plaats wordt in beschouwing genomen of er overdracht plaats kan vinden van het GGO naar andere virussen. Die kans is op de eerste plaats afhankelijk van de aanwezigheid van een verwant virus (dat homologieën vertoont met de vector) binnen hetzelfde celcompartiment waarin het GGO zich bevindt. Vervolgens zijn de kans op recombinatie en de eigenschappen van het gevormde product afhankelijk van de genetische opbouw van het GGO. Van een mogelijk gevormde recombinant moet vervolgens worden nagegaan in hoeverre hieruit selectieve voor- of nadelen voortvloeien.</p> <p>De vraag is of de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geheel of gedeeltelijk kunnen worden overgedragen naar nadere virussen en of dit vervolgens voor deze virussen kan leiden tot een selectief voor- of nadeel. Selectieve voor- of nadelen kunnen alleen optreden als de inserties op een of andere manier een interactie hebben met de virale levenscyclus.</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt Homologe recombinatie tussen het GGO en wildtype HVT zal alleen resulteren in reciproke uitwisseling en leidt slechts tot het verlies van de geïnserteerde genen en het ontstaan van wildtype HVT. Theoretisch is het mogelijk dat gevaccineerde kippen geïnfecteerd raken met MDV of andere herpesvirussen, waardoor recombinatie tussen het GGO en deze herpesvirussen mogelijk is. Daarnaast kunnen de geïnserteerde NDV en IBDV genen mogelijk recombineren met overeenkomstige genen in respectievelijk NDV en IBDV. Aan een dergelijke recombinatie zijn geen gevolgen verbonden omdat de eigenschappen van NDV en IBDV niet zullen veranderen door recombinatie met respectievelijk de NDV en IBDV genen uit het GGO.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect De uitgangsvector wordt opgekweekt in embryonale kippen fibroblasten, zogenoemde 'chicken embryo fibroblasts' (CEF). Dit zijn primaire cellen uit een specific pathogen free (SPF) kippenembryo van 10-11 dagen oud. Deze SPF kippenembryo's zijn vrij van onder andere IBDV, NDV en Marek's disease virussen. Hierdoor is de kans op recombinatie tussen het GGO en verwante virussen verwaarloosbaar klein.</p> <p>De kans op recombinatie tussen het GGO en MDV of andere herpesvirussen is verwaarloosbaar klein. Het HVT virus wordt al sinds 1972 gebruikt als kippenvaccin. Ondanks tientallen jaren van intensieve pluimveehouderij en co-infectie van commercieel pluimvee met MDV1, MDV2 en HVT is recombinatie tussen deze herpesvirussen nooit gerapporteerd. De kans op recombinatie tussen het GGO en MDV zal niet groter zijn dan tussen HVT en MDV omdat de IBDV en NDV</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: De gevolgen van genoverdracht door recombinatie kunnen groot zijn, afhankelijk van de ernst van het ziektebeeld dat erdoor wordt veroorzaakt, in de normale gastheer, of, als er sprake is van een uitbreiding van het gastheer bereik, in een nieuwe gastheer.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De waarschijnlijkheid dat de NDV F en IBDV VP2 genen naar andere virus- of gastheersoorten worden overgedragen is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico: Het risico is verwaarloosbaar klein.</p>



	<p>inserties geen sequentie homologie vertonen met MDV.</p> <p>Recombinatie tussen het geïnserteerde F gen met het overeenkomstige gen in NDV is zeer onwaarschijnlijk, omdat NDV weefsels van het respiratoire-, darm- en zenuwstelsel infecteert, terwijl het HVT virus en ook het GGO, lymfocyten infecteert. Het weefseltropisme van het GGO is immers ten opzichte van de uitgangsvector HVT niet veranderd. Voor recombinitie dienen beide virussen, het GGO en NDV, in dezelfde cel aanwezig te zijn. Bovendien is NDV een enkelstrengs RNA virus dat repliceert in het cytoplasma en HVT en het GGO zijn DNA virussen die repliceren in de kern. In het onwaarschijnlijk geval van recombinitie zullen de eigenschappen van NDV niet veranderen door recombinitie met het NDV gen uit het GGO. Het risico van recombinitie tussen het GGO en NDV is daarom verwaarloosbaar klein.</p> <p>Recombinatie tussen het geïnserteerde VP2 gen met het overeenkomstige gen in IBDV is zeer onwaarschijnlijk. IBDV infecteert cellen van de Bursa van Fabricius en HVT, en ook het GGO, infecteert lymfocyten, waardoor de kans dat beide virussen in dezelfde cel aanwezig zijn niet uitgesloten kan worden. Echter, IBDV is een dubbelstrengs RNA virus dat repliceert in het cytoplasma en HVT en het GGO zijn DNA virussen die repliceren in de kern. In het onwaarschijnlijk geval van recombinitie zullen de eigenschappen van IBDV niet veranderen door recombinitie met het IBDV gen uit het GGO. Het risico van recombinitie tussen het GGO en IBDV is daarom verwaarloosbaar klein.</p> <p>Er zijn geen aanwijzingen dat het HVT virus via het ei (verticale transmissie) verspreid kan worden naar nakomelingen. De waarschijnlijkheid van kiembaantransmissie is daarom verwaarloosbaar klein. Daarbij betreft de studie vaccinatie van slachtkuikens. De gevaccineerde slachtkuikens zullen geen eieren leggen op de pluimveebedrijven.</p>	
--	---	--



D. Effecten op doel en niet doel populaties		
<p>Effecten op doel en niet-doelpopulaties zullen alleen op kunnen treden indien er sprake is van verspreiding van het GGO in de omgeving van het proefdier. Een aantal aspecten betreffende pathogene effecten is al in beschouwing genomen onder A.</p> <p>In dit onderdeel worden de eventuele toxische en allergene effecten van het GGO beoordeeld op dieren in de omgeving van het proefdier. Elementen die daarbij in beschouwing genomen moeten worden zijn toxiciteit of andere schadelijke effecten zoals een effect van het GGO op het immuunsysteem, en allergeniteit van het genproduct. Bij de beoordeling moet rekening worden gehouden met de te verwachten blootstellingsweg en mate van blootstelling.</p> <p>De vraag is welke effecten de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT kunnen hebben op de niet-doelpopulatie.</p> <p>Met effecten worden schadelijke en niet-schadelijke effecten bedoeld, zoals eventuele toxische en allergene effecten.</p> <p>Specifieke gezondheidseffecten voor de mens worden onder onderdeel E besproken. Hiervoor moet worden nagegaan wat er bekend is over de effecten die de geïnserteerde genen kunnen hebben op de mens.</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt</p> <p>Zoals in onderdeel A vermeld is HVT endemisch in kalkoenen in Nederland. Kalkoenen kunnen al op één dag oud worden geïnfecteerd door inademing van besmette stofdeeltjes. Het HVT virus kan onder meer repliceren in de longen, witte bloedcellen, de thymus, milt, Bursa van Fabricius en veerfollikels. In de longen kan het HVT virus door cellen van het afweersysteem worden opgenomen. Vervolgens worden witte bloedcellen (lymfocyten) geïnfecteerd en verspreid het virus zich door het hele lichaam. Na een infectie kan het HVT virus latent aanwezig blijven in de lymfocyten. Uiteindelijk komt het virus in de veerfollikels terecht van waaruit verspreiding naar andere dieren plaats kan vinden. Het virus kan via deze natuurlijke verspreidingsroute van inhalatie alleen kalkoenen infecteren. Infectie van andere vogelsoorten is onwaarschijnlijk en slechts sporadisch waargenomen indien het virus direct was toegediend via injectie. In kippen kan het HVT virus repliceren en kan het tijdelijk in geringe hoeveelheden uitgescheiden worden. Onder normale natuurlijke omstandigheden, waarbij het virus door geïnfecteerde dieren via de veerfollikels uitgescheiden wordt en via inhalatie in andere dieren mogelijk terecht komt, is het zeer onwaarschijnlijk dat het virus andere kippen kan infecteren. HVT veroorzaakt geen ziekte in kippen, kalkoenen en ander gevogelte.</p> <p>HVT-ND-IBD kan voorkomen en repliceren in kalkoenen en door infectie of via vaccinatie kan het GGO ook in kippen repliceren. De gekloneerde IBDV en NDV genen leiden niet tot verandering van virulentie en weefseltropisme van de uitgangsvector.</p> <p>Studies in kippen hebben aangetoond dat het weefseltropisme van HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT niet veranderd is. De hoeveelheid virus in de veerfollikels is gereduceerd voor HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT. Studies in kalkoenen en kippen hebben aangetoond dat subcutane injectie van HVT-ND-IBD niet leidt tot klinische symptomen, daarmee aantonend dat het vaccin veilig is voor kalkoenen en kippen.</p> <p>Studies met Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, in duiven, eenden en kalkoenen tonen aan dat het gastheerbereik van Innovax-ND hetzelfde is als van de uitgangsvector HVT. Beide virussen kunnen repliceren in kalkoenen en geven geen klinische symptomen. In duiven en eenden kunnen beide virussen niet repliceren.</p> <p>Studies met Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, in duiven, fazanten, eenden,</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: De inserties van de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT kunnen niet leiden tot het optreden van schadelijke effecten.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De waarschijnlijkheid dat HVT-ND-IBD waarbij de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geïnserteerd zijn, leidt tot het optreden van schadelijke effecten op doel en niet doel populaties is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico: Het risico is verwaarloosbaar klein.</p>



	<p>kwartels en patrijzen tonen aan dat geen klinische symptomen werden waargenomen in deze vogelsoorten.</p> <p>Zoals in onderdeel A is vermeld is Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin. Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect</p> <p>Zoals in onderdeel A geconcludeerd leiden de gekloneerde NDV F en IBDV VP2 genen niet tot verandering van virulentie en tropisme van de uitgangsvector. Mogelijke verspreiding in het milieu van het GGO zal daarom niet anders zijn dan van de uitgangsvector HVT. In kippen kan HVT repliceren en kan het tijdelijk in geringe hoeveelheden uitgescheiden worden via de veerfollikels en kan dan via stof in het milieu terecht komen. Overleving van het HVT virus in de omgeving is niet bepaald onder veldcondities. Voor MDV serotype 1 virussen is dit wel bepaald. De stabiliteit van het cel-geassocieerde virus is compleet afhankelijk van de levensvatbaarheid van de cellen. Iedere behandeling die de levensvatbaarheid van de cellen beïnvloed, zal direct de infectiviteit van het virus beperken. Cel-vrij MDV, vrijgekomen via veerfollikels, aanwezig in veerstof, strooisel en mest is veel langer stabiel. Bij kamertemperatuur blijft het virus 4-8 maanden infectieus. Het virus is gevoelig voor een hoge temperatuur en overleving van het virus kan negatief beïnvloed worden door toegenomen luchtvochtigheid.</p> <p>Het GGO kan door gevaccineerde kippen uitgescheiden worden via de veerfollikels en kan dan via stof in het milieu terecht komen. Opgedwarreld stof kan zich als een aerosol gedragen. Verspreiding van HVT naar kippen via de natuurlijke route (inhalatie van stofdeeltjes) is zeer onwaarschijnlijk en is alleen aangetoond onder experimentele condities. Onder normale natuurlijke omstandigheden is verspreiding niet te verwachten omdat uitscheiding via de veerfollikels in kippen gelimiteerd en van voorbijgaande aard is. Daarnaast zijn kippen niet gevoelig voor infectie via de natuurlijke route van inhalatie. Verder is de hoeveelheid virus in de veerfollikels gereduceerd voor HVT-ND-IBD ten opzichte van de uitgangsvector HVT. De kans dat kippen en ander gevogelte, behalve kalkoenen, via deze natuurlijke weg geïnfecteerd raken met het GGO is zeer klein en verspreiding zal dus niet of nauwelijks plaatsvinden.</p>	
--	--	--



	<p>De kans dat andere vogels geïnfecteerd raken met HVT-ND-IB en dat daardoor een schadelijk effect optreedt is verwaarloosbaar klein. Alle (ventilatie) openingen in de stal zijn afgesloten met gaas zodat geen vogels binnen kunnen komen.</p> <p>HVT-ND-IBD kan zich alleen verspreiden door infectie van kalkoenen. In de stal waarin de gevaccineerde kippen gehouden worden zal geen pluimvee aanwezig zijn dat geen deel uitmaakt van het experiment. Binnen een straal van ongeveer 5 en 20 km rond de twee stallen worden geen kalkoenen gehouden. Na beëindiging van de studie zullen in de betreffende stallen gedurende 6 maanden geen kalkoenen gehouden worden. Daarbij komt dat indien verspreiding naar kalkoenen op zou treden er geen pathogene effecten kunnen optreden. Evenals het endemisch voorkomende HVT virus is HVT-ND-IBD niet pathogeen voor kalkoenen.</p> <p>Naast het gegeven dat er geen schadelijke effecten van HVT-ND-IBD geïdentificeerd zijn, is de waarschijnlijkheid van het optreden van effecten op doel en niet doel populaties verwaarloosbaar klein.</p>	
E. Mogelijke effecten op menselijke gezondheid		
<p>Aspecten gerelateerd aan de pathogeniteit van het GGO zijn reeds aan de orde geweest in onderdeel A. Daar werd de vraag gesteld of de inserties in het genoom van HVT leiden tot verandering in weefseltropisme, gastheerbereik, en in de mate van infectiviteit en virulentie van de virale vector in vergelijking met wildtype HVT.</p> <p>Aspecten gerelateerd aan toxiciteit of allergeniteit en andere gezondheidsgerelateerde effecten zijn hier aan de orde. Daarbij worden de eventuele toxische en allergene effecten van het GGO beoordeeld op mensen in de omgeving van de patiënt. Elementen die daarbij in beschouwing genomen moeten worden zijn toxiciteit of andere schadelijke effecten zoals een effect van het GGO op het immuunsysteem, en allergeniteit van het genproduct. Bij de beoordeling moet rekening worden gehouden met de te verwachten blootstellingsweg en mate van blootstelling.</p> <p>De vraag is welke effecten de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT kunnen hebben op de gezondheid van de niet-doelpopulatie (mens).</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt</p> <p>In onderdeel A en D is geconcludeerd dat er geen schadelijke effecten van HVT-ND-IBD geïdentificeerd zijn. HVT kan via de natuurlijke verspreidingsroute van inhalatie alleen kalkoenen infecteren. Infectie van andere vogelsoorten is onwaarschijnlijk en slechts sporadisch waargenomen indien het virus direct was toegediend via injectie. HVT veroorzaakt geen ziekte in kippen, kalkoenen en ander gevogelte.</p> <p>Zoals in onderdeel A is vermeld is Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin. Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect</p> <p>Onder A en D is geconcludeerd dat er geen schadelijke effecten van HVT-ND-IBD kunnen optreden. In de literatuur is beschreven dat zoogdiercellen niet geïnfecteerd kunnen</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: De inserties van de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT kunnen niet leiden tot het optreden van (schadelijke) effecten.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De waarschijnlijkheid dat HVT-ND-IBD waarbij de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geïnserteerd zijn, leidt tot het optreden van (schadelijke) effecten op de menselijke gezondheid is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico: Het risico is verwaarloosbaar klein.</p>



	<p>worden door HVT. Ook in pasgeboren hamsters, resusapen en marmoset apen kan HVT <i>in vivo</i> niet repliceren. Studies hebben aangetoond dat insertie van de NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT geen effect hebben op virulentie, weefseltropisme en gastheerbereik. Hierdoor is het onwaarschijnlijk dat mensen geïnfecteerd kunnen raken met HVT en het GGO.</p>	
<p>F. Mogelijke effecten op menselijke en diergezondheid ten gevolge van consumptie</p>		
<p>Er zal uitsluitend sprake van consumptie zijn indien het een toepassing op dieren betreft, en de proefdieren na afloop van het experiment voor menselijke consumptie of als diervoeder worden aangeboden. Alleen in dat geval wordt dat aspect in beschouwing genomen. Daarbij moet worden nagegaan in hoeverre consumptie van de tot expressie gebrachte genproducten kunnen leiden tot gezondheidsschade voor mens of dier.</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt Er is geen sprake van consumptie.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect Het is uitgesloten dat er schadelijke effecten optreden.</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: Niet van toepassing.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: Niet van toepassing.</p> <p>III. Het risico: Niet van toepassing.</p>
<p>G. Effecten op microbiële populaties in mens, dier of milieu</p>		
<p>In het algemeen wordt hieronder verstaan de negatieve effecten die GGO's kunnen hebben op (micro-)organismen die voorkomen als commensalen, of die verantwoordelijk zijn voor kringlopen van nutriënten of afbraak van organisch materiaal.</p> <p>De vraag is hier of de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT een effect kunnen hebben op andere microbiële populaties in mens, dier of het milieu.</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt Het in deze studie te gebruiken genetische gemodificeerde virus zal, zoals kenmerkend is voor virussen, buiten een gastheer geen activiteit vertonen.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect Er zijn geen potentiële effecten geïdentificeerd. De vraag naar de waarschijnlijkheid is daarom niet relevant.</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: Er zijn geen gevolgen te verwachten.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De waarschijnlijkheid is verwaarloosbaar klein.</p> <p>III. Het risico: Het risico is verwaarloosbaar klein.</p>



H. Veranderingen in de medische of veterinaire praktijk		
<p>Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde, directe en indirecte milieueffecten van de veranderde medische en veterinaire praktijk ten gevolge van de toepassing van de GGO's.</p> <p>Hieronder wordt verstaan dat de toepassing van het GGO kan leiden tot een verminderd effect en afgenomen toepasbaarheid van geneesmiddelen.</p> <p>De vraag is of de geïnserteerde NDV F en IBDV VP2 genen in het genoom van HVT zullen leiden tot veranderingen in de medische praktijk.</p>	<p>I. Evaluatie van mogelijke gevolgen van het schadelijke effect, indien het optreedt HVT wordt al sinds 1972 gebruikt als kippenvaccin om bescherming te bieden tegen de ziekte van Marek. Het vaccin (HVT-ND-IBD) wordt gebruikt voor de vaccinatie van kippen tegen infectie met MDV, NDV en IBDV en bevat het F gen van NDV en het VP2 gen van IBDV. Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, is sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin. Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt. Er zullen geen nadelige gevolgen zijn voor de behandelmethoden die beschikbaar zijn in de huidige medische of veterinaire praktijk.</p> <p>II. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect Er zijn geen potentiële effecten geïdentificeerd. De vraag naar de waarschijnlijkheid is daarom niet relevant.</p>	<p>I. Mogelijke gevolgen: Er zijn geen gevolgen te verwachten.</p> <p>II. De waarschijnlijkheid: De vraag naar waarschijnlijkheid is daarom niet relevant.</p> <p>III. Het risico: Het risico is verwaarloosbaar klein.</p>



DEEL 3. BEPALING VAN HET ALGEGHELE RISICO VAN HET GGO

Hieronder wordt de milieurisicoanalyse van de voorgestelde introductie van HVT-ND-IBD uitgevoerd. Potentieel significante risico's zijn die risico's waarvan niet is vastgesteld dat deze risico's geen significante effecten hebben.

Schatting van het risico dat aan de toepassing van alle geïnserteerde sequenties is verbonden	Strategieën voor risicobeheer bij de doelbewuste introductie van de GGO's. <i>(Eventuele aanvulling op strategieën die reeds zijn opgenomen in de aanvraag)</i>	Bepaling van het algehele risico van het GGO
<p>Voor het vaccin HVT-ND-IBD is geconcludeerd dat er geen sprake is van een risico voor mens en milieu. Zowel het uitgangsvirus HVT als het GGO kunnen geen ziekte veroorzaken, maar het GGO kan wel verspreid worden in het milieu. Echter, Innovax-ND, een HVT recombinant welke het F gen van NDV bevat, is sinds 2007 geregistreerd als vaccin in meer dan 20 landen. Meer dan 6 miljard doses Innovax-ND zijn verkocht waarbij er geen problemen gerapporteerd zijn met betrekking tot de veiligheid van het vaccin. Vaxxitek HVT-IBD, een HVT recombinant welke het VP2 gen van IBDV bevat, is sinds 2002 geregistreerd in Europa als vaccin. Het is een veilig vaccin dat veelvuldig wordt gebruikt. Er is geen aanleiding om te veronderstellen dat een vaccin waarin zowel het NDV F gen als het IBDV VP2 gen aanwezig zijn andere risico's met zich meebrengt als de beide vaccins waarin de individuele genen aanwezig zijn.</p> <p>De schadelijke effecten en de waarschijnlijkheid van het optreden van effecten als gevolg van blootstelling aan HVT-ND-IBD zijn verwaarloosbaar klein.</p>	<p>Aangezien er geen risico's zijn geconstateerd die groter worden geschat dan verwaarloosbaar klein, is risicomanagement uit oogpunt van milieuveiligheid niet noodzakelijk.</p>	<p>Verwaarloosbaar klein.</p>