

Bijlage 1 Advies van de Bioveiligheidsraad inzake dossier B/BE/01/V6

Overeenkomstig artikel 10§3 van het Koninklijk besluit van 18 december 1998 tot reglementering van de doelbewuste introductie in het leefmilieu evenals van het in de handel brengen van genetisch gemodificeerde organismen of producten die er bevatten, werd de bioveiligheid van dossier B/BE/01/V6 beoordeeld door de Bioveiligheidsraad bijgestaan door de wetenschappelijke Comité's "Recombinante virale vectoren, virosomen, recombinante vaccins, genterapie" en " Genetisch gemodificeerde micro-organismen - Bacteriën en Schimmels ". De Bioveiligheidsraad heeft besloten dat de proef B/BE/01/V6 niet kan toegelaten worden vooraleer er een antwoord op de hieronder vermelde vragen en opmerkingen is ontvangen. Deze bijkomende informatie is noodzakelijk vooraleer te kunnen starten met de proeven van doelbewuste introductie. De Raad brengt dus ongunstig advies uit voor het uitvoeren van deze proef. Dit advies wordt overgemaakt aan de bevoegde overheid en de regionale minister overeenkomstig artikel 11§3 van het besluit van 18 december 1998.

- De wild type stammen van *Salmonella* Dublin en *Salmonella* Typhimurium gebruikt voor de constructie van het GGO moeten beter gekarakteriseerd worden (bvb. oorsprong, type fagen, karakterisering van het genoom)
- De overleving van het vaccin in het milieu moet specifiek geëvalueerd worden.
- De pathogeniciteit van de vaccin stammen en van de mutanten met één deletie voor andere dieren dan kalveren, en voor de mens, moet onderzocht worden. De risico's voor immunodeficiënte personen moet ook geëvalueerd worden. Er moet ook meer informatie beschikbaar zijn over de functie van de genen die verwijderd werden om althans risico's te evalueren die in theorie mogelijk zijn.
- De risico's verbonden aan vaccinatie van immunodeficiënte dieren moet geëvalueerd worden.
- Sommige experts hebben hun twijfels over de pertinentie van de valentie *Salmonella* Dublin in het vaccin vermits dit serotype in België op dit ogenblik niet veelvuldig voorkomt bij de *Salmonella* stammen geïsoleerd uit dieren of mensen. De kennisgever moet epidemiologische data voorleggen voor België die de pertinentie kunnen bewijzen van het gebruik van de serotypes Dublin en Typhimurium als kandidaten voor een vaccin tegen *Salmonella* bij runderen.
- Wat is het risico dat deleties in de SP12 regio van de vaccin stammen kunnen gecompenseerd worden met sequenties uit de SPI1 regio van de vaccinstam, of met sequenties uit zowel de SPI1 als de SPI2 regio of andere regio's van andere *Salmonella* stammen door middel van horizontale gentransfer?
- De LD50 van het vaccin in muizen en/of andere knaagdieren of vogels (pluimvee) moet beschikbaar zijn en de testresultaten inzake clearance en half-life van het vaccin *in vivo* moeten verstrekt worden.
- De monitoring van mogelijke verspreiding van het GGO gedurende de proef moet uitgebreid worden en uitgevoerd worden aan de hand van internationaal aanvaarde methoden voor staalname en analyse, bvb. ISO6579. Het GGO en het DNA van het vaccin moeten opgespoord worden in het omgevende milieu van de gevaccineerde dieren. Bovendien is de gevoeligheidsdrempel van de detectiemethode van het vaccin in het dossier vermeld voor dierlijk weefsel en uitwerpselen, maar niet voor bodemstalen; de gevoeligheidsdrempel van milieustalen inclusief bodemstalen zou moeten aangeduid worden indien deze gekend is, of bepaald en aangeduid indien deze nog niet gekend is.

- De kennisgever moet procedures verstrekken die voorzien worden bij ongeval (gebroken spuiten of kolven) of accidentele contaminatie van oppervlakken (muren, zoldering, ...), van de mesthoop of van het water, en eveneens de procedure die voorzien is bij accidentele injectie bij de mens .
- De kennisgever moet ook informatie verstrekken betreffende de verpakking van het product en richtlijnen voor de veiligheid van de werknemers.
- In Nederland wordt in het kader van de reglementering van ingeperkt gebruik een andere studie uitgevoerd met dit vaccin. Wat zijn de doelstellingen van deze studie en de experimentele etappes ervan?
- De kennisgever moet de finale versie van het protocol bezorgen en het adres van de twee Belgische boerderijen waar de proef zal uigevoerd worden.

Annexe 1 ☐ Avis du Conseil de Biosécurité concernant le dossier B/BE/01/V6

Conformément à l'article 10§3 de l'arrêté royal du 18 décembre 1998 réglementant la dissémination volontaire dans l'environnement ainsi que la mise sur le marché d'organismes génétiquement modifiés ou de produits en contenant, la biosécurité du dossier B/BE/01/V6 a été évaluée par le Conseil de Biosécurité assisté d'experts des Comités scientifiques "Vecteurs viraux recombinants, virosomes, vaccins recombinants, thérapie génique" et "Micro-organismes génétiquement modifiés - Bactéries et Champignons". Le Conseil de Biosécurité a conclu que l'essai B/BE/01/V6 ne peut pas être autorisé tant que les réponses aux questions et commentaires listés ci-dessous n'ont pas été obtenues. Ces informations complémentaires sont nécessaires avant de pouvoir procéder à des essais de dissémination volontaire. Le Conseil émet donc un avis défavorable à la réalisation de cet essai. Le présent avis est transmis à l'autorité compétente et au Ministre régional, conformément à l'article 11§3 de l'arrêté du 18 décembre 1998.

- Les souches sauvages de *Salmonella* Dublin et de *Salmonella* Typhimurium utilisées pour la construction des OGM doivent être mieux caractérisées (e.g. origine, type de phage, caractérisation de leur génome plasmidique).
- La survie du vaccin dans l'environnement doit être spécifiquement évaluée.
- La pathogénicité pour d'autres animaux que les veaux et pour l'homme des souches vaccinales ainsi que des mutants par simple délétion doit être étudiée. Les risques du vaccin pour l'homme immunodéprimé doivent également être évalués. Plus d'informations sur les fonctions des gènes délétés sont aussi nécessaires afin d'évaluer les risques théoriques.
- Les risques liés à la vaccination d'animaux immunodéprimés doivent être évalués.
- Des experts doutent de la pertinence de la valence *Salmonella* Dublin dans le vaccin puisque ce sérotype n'est actuellement pas abondant parmi les isolats de *Salmonella* isolées chez l'animal ou chez l'homme en Belgique. Le notifiant doit fournir des données épidémiologiques pour la Belgique qui démontrent la pertinence de l'utilisation des sérotypes Dublin et Typhimurium comme candidats pour un vaccin contre *Salmonella* chez les bovins.
- Quel est le risque que les délétions dans la région SPI2 des souches vaccinales puissent être complétées par les séquences SPI1 présentes dans ces souches vaccinales, ou par des séquences de SPI1 ou de SPI2 ou par d'autres séquences acquises d'autres souches de *Salmonella* par transfert horizontal de gènes.
- La LD50 du vaccin chez la souris et/ou d'autres rongeurs ou chez les oiseaux (volaille) doit être disponible et des données expérimentales sur le taux d'élimination et la demi-vie du vaccin *in vivo* doivent être fournies.
- Le monitoring de la dissémination potentielle des OGM durant l'essai doit être renforcé et réalisé en appliquant des méthodes d'échantillonnage et d'analyse internationalement acceptées, par ex. ISO6579. Les OGM et les DNA vaccinaux doivent être tracés dans l'environnement des animaux vaccinés. De plus, la limite de sensibilité du test de détection du vaccin est mentionnée dans le dossier pour les tissus animaux et les fèces mais pas pour les échantillons de sol; la limite de sensibilité pour les échantillons environnementaux, y inclus les échantillons de sol, doit être indiquée si celle-ci est connue, ou alors déterminée et indiquée si elle ne l'est pas.
- Le notifiant doit fournir les procédures à suivre en cas d'accident (seringues ou flacons cassés) ou en cas de contamination accidentelle des surfaces (murs,

plafonds,...), du fumier ou de l'eau et également la procédure en cas d'injection accidentelle chez l'homme.

- Le notifiant doit aussi fournir l'information concernant l'emballage du produit et des lignes directrices pour la sécurité des travailleurs.
- Une autre étude sur ce vaccin est réalisée aux Pays-Bas conformément à la réglementation d'utilisation confinée. Quels sont les objectifs de cette étude et son schéma expérimental?
- Le notifiant doit fournir la version finale du protocole et l'adresse des deux fermes belges où se déroulera l'essai.