

PARTIE 1 (DECISION DU CONSEIL 2002/813/EC)

FORMULAIRE DE SYNTHÈSE DE LA NOTIFICATION CONCERNANT LA DISSEMINATION
D'ORGANISMES GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉS AUTRES QUE DES PLANTES SUPÉRIEURES
 CONFORMEMENT À L'ARTICLE 11 DE LA DIRECTIVE 2001/18/EC

A. INFORMATIONS D'ORDRE GÉNÉRAL**1. Caractéristiques de la notification**

- | | |
|---|--------|
| (a) Etat membre visé par la notification | France |
| (b) Numéro de notification | ... |
| (c) Date de l'accusé de réception de la notification | ... |
| (d) Titre du projet | |

Vaccination de poulets contre la maladie de Marek (Marek's Disease ou MD), avec un virus modifié de la maladie de Marek, de sérotype 1 (MDV1), contenant le LTR d'un virus de la réticuloendothéliose.

Le principe actif MDV1 est associé à un herpèsvirus de la dinde, non OGM, dénommé HVT FC126. Ce dernier est le principe actif du CRYOMAREX HVT, un vaccin destiné aux poulets protégeant contre MD, autorisé et utilisé dans le monde entier depuis les années 1970 (autorisé en France depuis 1985 -Autorisation de mise sur le marché numéro FR/V/5332435 9/1985-). A noter que depuis la commercialisation et l'utilisation sur le terrain de CRYOMAREX HVT, aucun impact sur l'environnement ou la santé humaine n'a été enregistré. De plus, cette souche HVT FC126 est largement utilisée et autorisée en Europe comme vecteur parental de vaccins aviaires recombinants, protégeant contre d'autres maladies (ex : maladie de Gumboro, maladie de Newcastle, laryngotrachéite infectieuse). Enfin, la souche HVT FC126 est également largement autorisée en combinaison avec la souche Rispens (MDV1) (i.e CRYOMAREX RISPENS+HVT).

Le présent formulaire est par conséquent centré sur le nouveau principe actif MDV1.

Il est important de noter que l'OGM visé par cette demande a déjà fait l'objet d'une autorisation de dissémination en France dans le cadre d'essais terrain en 2017 (autorisation EC-17-019, EC-17-020 et EC-17-021) et en 2019 (autorisation EC-18-198a). Seules les sections spécifiques au projet d'essai terrain actuel ont été mises à jour par rapport au précédent formulaire, soit les sections A1, A3, A6, F, G8, H, I et J3 et J4. L'ensemble des informations concernant l'OGM restent par ailleurs identiques par rapport à la demande précédente. Pour information, cet OGM, seul ou en association avec vHVT013-69 a été autorisé en juillet 2020 en Europe (Autorisations de mise sur le marché numéro EU/2/20/254 et EU/2/20/255). Un vaccin contenant cet OGM en combinaison avec HVT FC126 est en outre autorisé depuis 2018 aux USA.

(e) Période de dissémination proposée

Dates prévues : de 2-3Q21 à 4Q21-1Q22.

2. Notifiant**Nom de l'institut ou de la société**

Boehringer Ingelheim Animal health France (BIAH), 29 avenue Tony Garnier, 69007 Lyon, France.

3. Caractérisation de l'OGM**(a) Indiquez si l'OGM est:**

- | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| un viroïde | <input type="checkbox"/> | |
| un virus à ARN | <input type="checkbox"/> | |
| un virus à ADN | <input checked="" type="checkbox"/> | |
| une bactérie | <input type="checkbox"/> | |
| un champignon | <input type="checkbox"/> | |
| un animal | <input type="checkbox"/> | |
| - un mammifère | <input type="checkbox"/> | |
| - un insecte | <input type="checkbox"/> | |
| - un poisson | <input type="checkbox"/> | |
| - un autre animal | <input type="checkbox"/> | (précisez embranchement, classe) ... |
- autres** (précisez règne, embranchement et classe) ...

(b) Identité de l'OGM (genre et espèce)

Le vaccin à tester contient deux principes actifs mais un seul construit OGM basés sur deux herpesvirus appartenant au genre Mardivirus : RN1250 et le déjà connu HVT FC126.

RN1250 est une chimère du virus de la maladie de Marek, de sérotype 1 (MDV ; Gallid alphaherpesvirus 2), basée sur le virus vaccinal parental MDV CVI988, et qui contient deux copies de séquences terminales longues répétées (long terminal repeat ou LTR) du virus de la réticuloendothéliose (REV) insérées dans le génome d'une souche MDV RM1.

(c) Stabilité génétique - conformément à l'Annexe III A, chapitre II, paragraphe A, point 10

La stabilité génétique a été démontrée pour le construit RN1250 après passages successifs sur cellules d'embryon de poulet en utilisant différentes techniques de biologie moléculaire (PCR, Southern blot).

4. La même dissémination de l'OGM est-elle prévue ailleurs dans la Communauté (conformément aux dispositions de l'article 6, paragraphe 1) par le même notifiant ?

Oui Non

Dans l'affirmative, indiquez le(s) code(s) du (des) pays: ...

5. Le même OGM a-t-il fait l'objet d'une notification de la part du même notifiant en vue de sa dissémination ailleurs dans la Communauté ?

Oui Non

Dans l'affirmative :

- Etat membre visé par la notification ...
- Numéro de la notification ...

6. Le même OGM a-t-il fait l'objet d'une notification de la part du même notifiant ou d'un autre notifiant en vue de sa dissémination ou de sa mise sur le marché en dehors de Communauté ?

Oui Non

Dans l'affirmative :

- Etat membre visé par la notification Etats-Unis d'Amérique (USA)
- Numéro de la notification La même souche RN1250 a été disséminée aux USA en 2015-2016 dans le cadre d'essais d'innocuité sur le terrain, suite à l'obtention d'un Finding of No Significant Impact (FONSI) après évaluation par l'USDA-APHIS de l'innocuité sur l'animal, la santé publique et la sécurité environnementale. L'OGM seul ou associé au vHVT013 ou HVT parental ont été autorisés aux USA en 2017 et 2018 respectivement.

7. Conclusions concernant les incidences potentielles sur l'environnement de la dissémination des OGM

Le vaccin proposé contient un Mardivirus modifié, RN1250, qui s'est montré génétiquement stable. Le virus parental (CVI988) est un virus non pathogène de Gallid alphaherpesvirus 2 utilisé comme souche vaccinale dans de nombreux pays dans le monde. Le matériel génétique inséré dans le génome du construit n'a pas d'effet toxique connu. Cette souche ne contient pas de gènes de résistance aux antibiotiques. Elle est bien caractérisée et peut être identifiée par sa séquence unique. Les modifications génétiques n'ont pas induit d'augmentation de la transmission, de la diffusibilité et des capacités de persistance, et n'ont pas modifié le tropisme tissulaire.

La souche sera directement administrée à des poussins de 1 jour par injection après dilution dans le diluant Marek. Comme les autres vaccins contre la maladie de Marek depuis le début des années 1970, l'administration du vaccin sera faite au couvoir par des techniciens entraînés et qualifiés. Il ne devrait pas y avoir d'OGM du vaccin, libre en dehors des poussins au moment de l'administration, et même si une ampoule se casse accidentellement ou du vaccin se déverse lors du transport, du stockage, de la préparation ou de l'administration du vaccin, l'OGM ne resterait pas infectieux longtemps car il est rapidement inactivé dans l'environnement.

Le RN1250, comme son virus parental, ne se réplique pas dans des cellules de mammifères, et il n'y a donc pas de problème particulier de sécurité en cas d'injection accidentelle à l'homme. A la fin des essais terrain, les ampoules qu'elles soient utilisées ou non, et les sacs de diluants, tout comme le matériel jetable utilisé pour l'administration du vaccin, seront détruits par incinération sous la responsabilité du moniteur d'étude. Les dispositifs de vaccination automatiques seront nettoyés et désinfectés (pratique standard terrain) avant d'être utilisés pour la vaccination d'autres oiseaux ou d'œufs.

L'innocuité de la souche a été démontrée chez les hôtes naturels (poulets), ainsi que chez d'autres oiseaux non cibles et des mammifères (cailles, dindes, pigeons, canards, faisans, souris). Le construit n'a pas diffusé des poulets vaccinés aux poulets non vaccinés dans les conditions testées. Son utilisation ne présente pas de risque pour le poulet ou l'environnement.

Pour conclure, l'impact environnemental potentiel de ce vaccin peut être considéré comme négligeable.

B. INFORMATIONS CONCERNANT LES ORGANISMES RECEPTEURS OU LES ORGANISMES PARENTAUX DONT L'OGM EST ISSU

NB: Comme mentionné précédemment, seule l'information concernant la souche RN1250 est détaillée dans cette section et les suivantes, car l'autre principe actif (HVT FC126) pouvant lui être associé, est déjà bien connu, autorisé et utilisé dans le monde entier, y compris en UE, depuis de nombreuses années.

1. Caractérisation de l'organisme parental ou de l'organisme récepteur :

(a) Nature de l'organisme récepteur ou parental :

- | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| viroïde | <input type="checkbox"/> | |
| virus à ARN | <input type="checkbox"/> | |
| virus à ADN | <input checked="" type="checkbox"/> | |
| bactérie | <input type="checkbox"/> | |
| champignon | <input type="checkbox"/> | |
| animal | <input type="checkbox"/> | |
| - mammifère | <input type="checkbox"/> | |
| - insecte | <input type="checkbox"/> | |
| - poisson | <input type="checkbox"/> | |
| - autre animal | <input type="checkbox"/> | (précisez embranchement, classe) ... |
| autres (précisez) | ... | |

2. Nom

- | | |
|---|---|
| (i) Ordre et/ou taxon de rang supérieur (pour les animaux) | Famille des
Herpesviridae |
| (ii) Genre | Mardivirus |
| (iii) Espèce | Gallid alphaherpesvirus 2 |
| (iv) Sous-espèce | - |
| (v) Souche | CVI988 (Rispens) |
| (vi) Pathovar (biotype, écotype, race, etc.) | - |
| (vii) Nom usuel | Virus de la maladie
de Marek (MDV), sérotype 1 |

3. Distribution géographique de l'organisme

(a) Indigène du pays d'où émane la notification, ou installé dans ce pays :

Oui Non Non connu

La souche parentale CVI988 est une souche terrain largement utilisée comme souche vaccinale dans de nombreux vaccins contre la maladie de Marek enregistrés en Europe.

(b) Indigène d'autres pays de la Communauté européenne, ou installé dans ces pays :

(i) Oui

CVI988 est utilisé dans le monde entier comme souche vaccinale contre la maladie de Marek en production aviaire et est donc présent dans l'environnement proche des élevages de poulets.

Dans l'affirmative, indiquez dans quel type d'écosystème on le trouve :

Atlantique

Méditerranéen

Boréal

Alpin

Continental

Macaronésien

(ii) Non

(iii) Non connu

(c) L'organisme est-il fréquemment utilisé dans le pays d'où émane la notification ?

Oui Non

(d) L'organisme est-il fréquemment conservé dans le pays d'où émane la notification ?

Oui Non

4. Habitat naturel de l'organisme :**(a) Si l'organisme est un micro-organisme :**

Eau

Sol, état libre

Sol, en symbiose avec le système racinaire d'un végétal

En symbiose avec les feuilles ou le système pédonculaire d'un végétal

En symbiose avec des animaux

Autres (précisez)

CVI988 est non pathogène et se transmet par les poulets vaccinés ; il peut être transmis des oiseaux vaccinés aux oiseaux non vaccinés.

La souche CVI988 a été isolée et caractérisée à la fin des années 1960 / début des années 1970, et est largement utilisée depuis lors comme souche vaccinale apathogène contre la maladie de Marek chez les poulets.

- (b) **Si l'organisme est un animal : habitat naturel ou agroécosystème habituel :**
Non applicable.

5. (a) **Techniques de détection**

Isolement du virus par culture sur cellules d'embryon de poulet. Détection du génome par PCR (Polymerase Chain Reaction ou Amplification en Chaîne par Polymérase).

(c) **Techniques d'identification**

PCR (Polymerase Chain Reaction) et séquençage.

6. **L'organisme récepteur fait-il l'objet d'une classification au titre de la réglementation communautaire en vigueur concernant la protection de la santé humaine et/ou de l'environnement ?**

Oui Non

Dans l'affirmative, précisez

G1 pour la souche vaccinale (G2 Ea1 pour la souche terrain de MDV).

7. **L'organisme récepteur (y compris ses produits extracellulaires) vivant ou mort est-il particulièrement pathogène ou nuisible d'une quelconque autre façon ?**

Oui Non Non connu

La souche parentale est une souche vaccinale non pathogène.

Dans l'affirmative :

(a) **Pour quels organismes :**

Les humains

Les animaux

Les végétaux

Autres

(b) **Donnez les informations pertinentes visées à l'Annexe IIIA, chapitre II, paragraphe A), point 11 d), de la Directive 2001/18/CE :**

Non applicable.

8. **Informations concernant la reproduction**

(a) **Temps de génération dans les écosystèmes naturels :**

Non applicable.

- (b) **Temps de génération dans l'écosystème où la dissémination sera effectuée :**
Non applicable.
- (c) **Mode de reproduction :**
Sexuée Asexuée
Non applicable.
- (d) **Facteurs affectant la reproduction :**
Non applicable.

9. Capacité de survie

- (a) **Capacité à former des structures augmentant la survie ou la dormance :**
- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| (i) Endospores | <input type="checkbox"/> |
| (ii) Kystes | <input type="checkbox"/> |
| (iii) Sclérotés | <input type="checkbox"/> |
| (iv) Spores asexuées (champignons) | <input type="checkbox"/> |
| (v) Spores sexuées (champignons) | <input type="checkbox"/> |
| (vi) Œufs | <input type="checkbox"/> |
| (vii) Pupes | <input type="checkbox"/> |
| (viii) Larves | <input type="checkbox"/> |
| (ix) Autres (précisez) | ... |
- Non applicable.

(b) **Facteurs pertinents affectant la capacité de survie**

L'OGM dans le vaccin est dans une forme associée à la cellule. La stabilité des vaccins Marek associés à la cellule est totalement dépendante de la viabilité des cellules. Tout traitement affectant la viabilité cellulaire impactera directement l'infectivité du virus.

Le virus potentiellement transmis à partir des follicules plumeux des oiseaux vaccinés est plus résistant. Il est inactivé à pH bas (3) ou élevé (11) et à haute température (56°C ou plus), ainsi que par divers désinfectants chimiques. Le titre du virus dans la litière est impacté par une humidité accrue.

10. (a) Voies de dissémination

Le virus MDV est transmis par les poulets infectés par le bais du follicule plumeux, comme les particules de plumes infectées. Ces poussières entrent dans les poulets naïfs par le tractus respiratoire (dissémination dans l'air). La souche parentale CVI988 peut ainsi diffuser de poulet à poulet.

(b) **Facteurs affectant la dissémination**

La dissémination est augmentée par : Haute densité de population, mauvaise hygiène, forte densité de poussière, mauvais nettoyage et désinfection, présence d'oiseaux naïfs (non vaccinés).

11. Précédentes modifications génétiques de l'organisme récepteur ou parental dont la dissémination a déjà été notifiée dans le pays d'où émane la notification (indiquez les numéros des notifications)

A notre connaissance, aucune modification n'a été notifiée pour dissémination dans le pays où la présente notification est faite (France).

C. INFORMATIONS CONCERNANT LA MODIFICATION GENETIQUE

NB : Un vecteur (appelé cosmide donneur) a été utilisé pour insérer les matériels génétiques dans le virus récepteur par recombinaison homologue.

1. Type de modification génétique

- | | | |
|-------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| (i) | Insertion de matériel génétique | <input checked="" type="checkbox"/> |
| (ii) | Suppression de matériel génétique | <input type="checkbox"/> |
| (iii) | Substitution de base | <input type="checkbox"/> |
| (iv) | Fusion cellulaire | <input type="checkbox"/> |
| (v) | Autres (précisez) | ... |

2. Résultat escompté de la modification génétique

Virus de la maladie de Marek chimérique (Gallid alphaherpesvirus 2) contenant le LTR d'un virus de la réticuloendothéliose inséré dans chaque séquence répétée inversée (IR) flanquant la partie US du génome. L'insertion du LTR doit permettre d'améliorer à la fois l'innocuité et l'efficacité du vaccin MD.

3. (a) Un vecteur a-t-il été utilisé pour induire la modification ?

Oui Non

Dans la négative, passez directement à la question 5.

(b) Dans l'affirmative, ce vecteur est-il présent en totalité ou en partie dans l'organisme modifié ?

Oui Non

Dans la négative, passez directement à la question 5.

4. Si vous avez répondu par l'affirmative à la question 3 b), donnez les informations suivantes :

- (a) Type de vecteur**
- | | |
|---------------|--------------------------|
| Plasmide | <input type="checkbox"/> |
| Bactériophage | <input type="checkbox"/> |
| Virus | <input type="checkbox"/> |

Cosmide
Transposon
Autres (précisez) ...

(b) Identité du vecteur

B40-RM1Pac

(c) Gamme d'hôtes du vecteurSouche de laboratoire *Escherichia coli* (K12)**(d) Présence dans le vecteur de séquences donnant un phénotype repérable ou identifiable**Oui Non **Résistance aux antibiotiques** **Autres (précisez)** ...**Indiquez quel est le gène de résistance aux antibiotiques inséré**

Gènes conférant une résistance à l'ampicilline et à la néomycine, contenus dans le squelette du cosmide, mais non transférés à l'organisme récepteur.

(e) Fragments constituant le vecteur

Squelette du cosmide vecteur SuperCos 1 contenant le fragment génomique *B/p1* terminal de la souche Md5 de Gallid alphaherpesvirus 2 dont le fragment *Pacl* a été remplacé par le fragment *Pacl* homologue du virus RM1 de Gallid alphaherpesvirus 2 contenant les deux copies de LTR de REV.

(f) Méthode utilisée pour introduire le vecteur dans l'organisme récepteur**(i) Transformation** **(ii) Electroporation** **(iii) Macro-injection** **(iv) Micro-injection** **(v) Infection**

(vi) Autres (précisez) La partie de l'insert du cosmide vecteur du RN1250 a été introduite dans le génome de l'organisme récepteur MDV, par recombinaison homologue *in vitro* (IVR ou *in vitro* recombination) entre les bras encadrant du vecteur et les séquences correspondantes encadrant le locus d'insertion du génome de MDV. L'IVR a eu lieu après co-transfection de fibroblastes d'embryon de poulet avec l'ADN du cosmide donneur (vecteur) et l'ADN génomique de la souche MDV CVI988 (organisme récepteur).

5. Si vous avez répondu par la négative aux questions C. 3 a) et b), quelle a été la méthode utilisée pour la modification ?**(i) transformation**

- (ii) **micro-injection**
- (iii) **micro-encapsulation**
- (iv) **macro-injection**
- (v) **autres (précisez)** ...
Non applicable.

6. Informations sur l'insert

(a) Composition de l'insert

L'insert contient les régions génomiques entières des séquences répétée inversée (IRS ou inverted repeat short), unique courte (US ou unique short) et terminale courte répétée (TRS ou terminal repeat short) provenant de deux autres souches MDV : Md5 (portion distale d'IRS et TRS) et RM1 (partie proximale d'IRS et TRS, ainsi que l'US entière, toutes contenues dans un fragment de restriction *PacI*), cette dernière contenant une copie de LTR de REV insérée dans la partie proximale de chaque séquence répétée inversée flanquant l'US. Cet insert remplace les régions génomiques correspondantes (IRS-US-TRS) du virus parental CVI988.

(b) Origine de chaque partie constitutive de l'insert

- ✓ De la jonction IRL/IRS au site de restriction *PacI* localisé dans l'IRS : région génomique correspondant à la souche Md5.
- ✓ Fragment de restriction *PacI* : issu de la souche RM1 ; ce fragment inclut l'entièreté de l'US ainsi que les séquences proximales IRS et TRS (incluant les deux copies de LTR du REV). La souche parentale RM1 est la souche JM/102W dans le génome de laquelle a été inséré le LTR.
- ✓ Du site de restriction *PacI* localisé dans le TRS jusqu'à la fin du TRS : région génomique correspondant à Md5.

(c) Fonction recherchée de chaque partie constitutive de l'insert dans l'OGM

L'insert permet d'améliorer à la fois l'innocuité et l'efficacité MD du virus parental.

(d) Emplacement de l'insert dans l'organisme hôte

- sur un plasmide libre
- intégré dans le chromosome
- autres (précisez)

Inséré dans le génome MDV (RN1250).

(e) L'insert contient-il des parties dont le produit ou la fonction n'est pas connu ?

Oui Non

Dans l'affirmative, précisez ...

D. INFORMATIONS CONCERNANT LE OU LES ORGANISMES DONT PROVIENT L'INSERT (ORGANISMES DONNEURS)

- Pour les portions génomiques des souches MDV Md5 et JM/102W (souche parentale de RM1) :

1. Indiquez s'il s'agit :

- D'un viroïde
 D'un virus à ARN
 D'un virus à ADN
 D'une bactérie
 D'un champignon
 D'un animal
 - d'un mammifère
 - d'un insecte
 - d'un poisson
 - d'un autre animal (précisez embranchement, classe) ...
 Autres (précisez) ...

2. Nom complet

- | | |
|---|---|
| (i) Ordre et/ou taxon de rang supérieur (pour les animaux) | Virus |
| (ii) Nom de famille (pour les végétaux) | Herpesviridae |
| (iii) Genre | Mardivirus |
| (iv) Espèce | Gallid |
| | alphaherpesvirus 2 |
| (v) Sous-espèce | - |
| (vi) Souche | Md5 et JM/102W |
| (vii) Cultivar/lignée | - |
| (viii) Pathovar | - |
| (ix) Nom usuel | Virus de la maladie de Marek (sérotipe 1) |

3. L'organisme (y compris ses produits extracellulaires) vivant ou mort est-il particulièrement pathogène ou nuisible d'une quelconque autre façon ?

Oui Non Non connu

Dans l'affirmative, précisez : La souche Md5 de MDV est considérée comme une souche de MDV très virulente (vvMDV), et la souche JM/102W (souche parentale de la souche RM1) est considérée comme une souche virulente de MDV (vMDV) pour les poulets. Les gènes connus pour être clairement impliqués dans la virulence n'ont pas été transférés de ces souches dans le génome de RN1250. Aucune des souches de MDV n'infecte les mammifères, y compris les humains.

(a) Pour quels organismes ?

- Les humains
 Les animaux
 Les végétaux
 Autres ...

(b) Les séquences insérées jouent-elles un quelconque rôle dans les propriétés pathogènes ou nuisibles à l'organisme ?

Oui Non Non connu

Dans l'affirmative, donnez les informations pertinentes visées à l'annexe IIIA chapitre 2, paragraphe A, point 11 d) : ...

4. L'organisme donneur fait-il l'objet d'une classification au titre de la réglementation communautaire en vigueur concernant la protection de la santé humaine et de l'environnement, telle que la Directive 90/679/CEE concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail ?

Oui Non

Dans l'affirmative, précisez G2

5. Y a-t-il échange naturel de matériel génétique entre l'organisme donneur et l'organisme récepteur ?

Oui Non Non connu

Si deux MDVs infectent la même cellule dans un poulet co-infecté, une recombinaison homologue entre leurs génomes peut potentiellement avoir lieu. Cependant, il est improbable que le virus recombinant en résultant soit plus virulent que la souche préexistante, puisque le génome de CVI988 a de multiples marqueurs d'atténuation.

• Pour la portion génomique du LTR de REV dans RM1 :

1. Indiquez s'il s'agit :

- D'un viroïde
 D'un virus à ARN
 D'un virus à ADN
 D'une bactérie
 D'un champignon
 D'un animal
 - d'un mammifère
 - d'un insecte
 - d'un poisson
 - d'un autre animal (précisez embranchement, classe) ...
 Autres (précisez) ...

2. Nom complet

(i)	Ordre et/ou taxon de rang supérieur (pour les animaux)	Virus
(ii)	Nom de famille (pour les végétaux)	Retroviridae
(iii)	Genre	Gammaretrovirus
(iv)	Espèce	Virus de la réticuloendothéliose
(v)	Sous-espèce	Sous-type antigénique 3
(vi)	Souche	Virus syncytial du poulet (CSV ou Chick Syncytial Virus)
(vii)	Cultivar/lignée	-
(viii)	Pathovar	-
(ix)	Nom usuel	REV

3. L'organisme (y compris ses produits extracellulaires) vivant ou mort est-il particulièrement pathogène ou nuisible d'une quelconque autre façon ?

Oui Non Non connu

Dans l'affirmative, précisez : Le CSV non défectif induit des lymphomes à cellules B touchant principalement le foie et la bourse de Fabricius dans l'espèce aviaire, dont le poulet, la dinde, le canard, l'oie, le faisan, la caille du Japon, le paon et le tétras des prairies.

(a) Pour quels organismes ?

Les humains
 Les animaux
 Les végétaux
 Autres ...

(b) Les séquences insérées jouent-elles un quelconque rôle dans les propriétés pathogènes ou nuisibles à l'organisme ?

Oui Non Non connu

Dans l'affirmative, donnez les informations pertinentes visées à l'annexe IIIA chapitre 2, paragraphe A, point 11 d) : ...

4. L'organisme donneur fait-il l'objet d'une classification au titre de la réglementation communautaire en vigueur concernant la protection de la santé humaine et de l'environnement, telle que la Directive 90/679/CE concernant la protection des travailleurs contre les risques liés à l'exposition à des agents biologiques au travail ?

Oui Non

Dans l'affirmative, précisez G2 (Ea1)

5. Y a-t-il échange naturel de matériel génétique entre l'organisme donneur et l'organisme récepteur ?

Oui Non Non connu

Comme pour les autres rétrovirus, le génome de REV peut s'intégrer dans le génome de la cellule hôte après infection. Si une co-infection a lieu, il peut également s'intégrer dans le génome de grands virus à ADN, comme un fowlpox ou un virus de la maladie de Marek. L'insertion du génome entier dans le génome d'un herpèsvirus est généralement instable : la recombinaison homologue entre les deux copies de LTR résulte dans la délétion de la partie unique (contenant les gènes *gag*, *pol* et *env*) ainsi que d'un des deux LTRs, laissant seulement une copie de LTR comme cicatrice de l'insertion du génome de rétrovirus entier. Ainsi la création du virus RM1 résulte d'une co-infection du MDV JM/102W et REV CSV. Dans RM1, la copie de LTR insérée dans l'IRS a été en fait dupliquée dans le TRS par recombinaison homologue intragénomique entre l'IRS et le TRS durant la réplication de RM1.

E. INFORMATIONS CONCERNANT L'ORGANISME GENETIQUEMENT MODIFIE

1. Quelles sont les caractéristiques génétiques ou phénotypiques de l'organisme récepteur ou parental qui ont été touchées par la modification génétique ?

(a) L'OGM diffère-t-il de l'organisme récepteur du point de vue de la capacité de survie ?

Oui Non Non connu
Précisez ...

(b) L'OGM diffère-t-il d'une quelconque façon du récepteur du point de vue du mode et/ou du taux de reproduction ?

Oui Non Non connu
Précisez ...

(c) L'OGM diffère-t-il d'une quelconque façon du récepteur du point de vue de la dissémination ?

Oui Non Non connu
Précisez

La transmission horizontale du virus récepteur CVI988, des poulets vaccinés aux poulets contact non vaccinés est bien connue. Aucune transmission horizontale n'a pu être détectée avec la souche RN1250 dans les conditions testées.

(d) L'OGM diffère-t-il d'une quelconque façon du récepteur du point de vue du pouvoir pathogène ?

Oui Non Non connu
Précisez ...

2. Stabilité génétique de l'organisme génétiquement modifié

La stabilité génétique du RN1250 a été évaluée par PCR, Southern blot et séquençage après au moins 5 passages *in vitro* et 5 passages *in vivo*. Aucune modification n'a été observée.

3. L'OGM (y compris ses produits extracellulaires) vivant ou mort est-il particulièrement pathogène ou nuisible d'une quelconque autre façon ?

Oui Non Non connu

Dans l'affirmative :

(a) Pour quels organismes ?

Les humains

Les animaux

Les végétaux

Autres ...

(b) Donnez les informations pertinentes visées à l'annexe IIIA chapitre II, paragraphe A, point 11 d), et paragraphe C), point 2) i)

Non applicable.

4. Description des méthodes de détection et d'identification

(a) Techniques utilisées pour détecter l'OGM dans l'environnement

Le génome du construit peut être détecté spécifiquement dans l'environnement par PCR. La souche peut également être isolée par culture sur fibroblastes de poulet.

(b) Techniques utilisées pour identifier l'OGM

PCR (Polymerase Chain Reaction) et séquençage.

F. INFORMATIONS CONCERNANT LA DISSEMINATION

1. But de la dissémination (et avantages importants à attendre sur le plan de l'environnement)

La dissémination aura pour but d'évaluer l'innocuité et l'efficacité du vaccin contenant le virus RN1250 associé avec la souche parentale HVT chez le poulet de chair dans les conditions terrain.

2. Le site de dissémination diffère-t-il de l'habitat naturel de l'organisme récepteur ou de l'organisme parental ou de l'écosystème dans lequel il est normalement utilisé, conservé ou observé ?

Oui Non

Dans l'affirmative, précisez ...

3. Informations concernant le lieu de la dissémination et la zone environnante

- (a) **Situation géographique (région administrative et éventuellement coordonnées)**
Nord-ouest de la France
- (b) **Etendue du site (m²)**
- (i) **Site effectif de dissémination (m²) :** La dissémination concernera au plus 1 couvoir, 2 fermes (les animaux inclus dans l'essai seront gardés séparés physiquement des autres afin d'éviter tout mélange) et 1 abattoir.
- (ii) **Zone touchée par la dissémination (m²) :** Non applicable (le vaccin sera injecté à chaque poulet dans l'essai).
- (c) **Proximité de biotopes ou de zones protégées internationalement reconnus (notamment les réservoirs d'eau potable) susceptibles d'être touchés**
Non applicable. Il n'y aura pas de telles zones dans les environs.
- (d) **Flore et faune, y compris les cultures, le bétail et les espèces migratrices susceptibles d'interagir avec l'OGM**
Dans le cadre du protocole expérimental, il n'existe pas de tel risque.
La flore n'est pas atteinte.
Seuls des poulets sont élevés sur les fermes. Le RN1250 n'a pas diffusé de poulet à poulet dans les conditions testées. Le virus s'est montré sûr pour les cailles, dindes, canards, faisans et pigeons.

4. Méthodes de dissémination et ampleur de l'opération

- (a) **Quantités d'OGM à disséminer**
Il est prévu de vacciner moins de 20 000 poulets avec le vaccin testé (1 dose de vaccin/poussin).
- (b) **Durée de l'opération**
Chaque poulet recevra une seule injection de vaccin et sera gardé en observation pendant maximum 20 semaines.
- (c) **Méthodes et procédures permettant d'éviter et/ou de réduire au minimum la propagation des OGM au-delà du site de dissémination**
Injection parentérale (confinement physique naturel).
Récupération des emballages et matériels contaminés (destruction par incinération).
Les animaux seront gardés dans des bâtiments fermés (confinement physique) tout au long de leur vie.

5. Brève description des conditions ambiantes moyennes (temps, température, etc.)

Non applicable. Les conditions environnementales (temps, température, etc.) ne devraient pas modifier la survie, la multiplication et la dissémination.

6. Information utiles concernant le cas échéant, de précédentes disséminations du même OGM en particulier du point de vue des incidences potentielles sur la santé humaine

Le vaccin RN1250 a été autorisé pour dissémination volontaire puis mis sur le marché aux USA ; En complément, une autorisation de dissémination volontaire du vaccin RN1250 seul et en association avec le vHVT013 a été obtenue en France début 2017 et 2019 par l'ANSES et après consultation auprès de l'HCB (numéros de notification EC-17-019, EC-17-020, EC-17-021 et EC-18-198a). A notre connaissance, aucune incidence potentielle sur la santé humaine n'a été rapportée dans aucun des pays où les disséminations ont eu lieu (USA et France). Il est important de noter que deux autorisations d'utilisation du vaccin RN1250 seul et en association avec vHVT013 ont été délivrées en Juillet 2020 par l'agence européenne du médicament.

Le construit est incapable de se répliquer chez l'homme et les mammifères.

Les virus associés aux cellules ne peuvent pas survivre, se disséminer dans d'autres organismes que certains oiseaux Galliformes, et ne sont pas pathogènes pour les animaux ou les plantes.

G. INTERACTIONS DE L'OGM AVEC L'ENVIRONNEMENT ET INCIDENCES POTENTIELLES SUR L'ENVIRONNEMENT EN CAS DE DIFFERENCES NOTABLES AVEC L'ORGANISME RECEPTEUR OU L'ORGANISME PARENTAL

1. Nom des organismes cibles (le cas échéant)

(i)	Ordre et/ou taxon de rang supérieur (pour les animaux)	Galliformes
(ii)	Nom de la famille (pour les végétaux)	-
(iii)	Genre	<i>Gallus</i>
(iv)	Espèce	<i>gallus</i>
(v)	Sous-espèce	<i>domesticus</i>
(vi)	Souche	-
(vii)	Cultivar/lignée	-
(viii)	Pathovar	-
(ix)	Nom usuel	Poulet

2. Mécanisme et résultats prévus de l'interaction entre les OGM disséminés et l'organisme cible (le cas échéant)

Suite à son inoculation dans le poulet, le RN1250 va débiter sa réplication dans les cellules cibles, dont les lymphocytes B et T et l'épithélium du follicule plumeux. Sa réplication va induire une réponse immunitaire protectrice contre la maladie de Marek.

L'OGM est non pathogène que ce soit pour l'espèce cible, ou pour toutes les espèces non-cibles étudiées.

3. Autres interactions potentiellement importantes avec d'autres organismes présents dans l'environnement

Aucune autre interaction avec les autres organismes dans l'environnement n'est attendue.

4. Une sélection postérieure à la dissémination (telle qu'une compétitivité accrue ou une plus grande aptitude à la prolifération) est-elle probable pour l'OGM ?

Oui Non Non connu

Précisez Il n'a pas été montré que le virus pouvait être transmis de poulets vaccinés à non vaccinés dans les conditions testées.

5. Types d'écosystèmes dans lesquels l'OGM pourrait se propager à partir du site de dissémination et dans lesquels il pourrait s'installer

Dans le cadre de l'essai terrain, il n'y a pas de tel risque.

Il n'a pas été montré dans les études menées que le RN1250 pouvait se transmettre/diffuser aux oiseaux contact non vaccinés.

6. Nom complet des organismes non-cibles susceptibles d'être accidentellement touchés par la dissémination de l'OGM (compte tenu de la nature de l'environnement récepteur)

Non applicable. Il n'y a pas d'organisme non-cible que l'OGM pourrait toucher.

- | | | |
|--------|---|-----|
| (i) | Ordre et/ou taxon de rang supérieur (pour les animaux) | ... |
| (ii) | Nom de famille (pour les végétaux) | ... |
| (iii) | Genre | ... |
| (iv) | Espèce | ... |
| (v) | Sous-espèce | ... |
| (vi) | Souche | ... |
| (vii) | Cultivar/lignée | ... |
| (viii) | Pathovar | ... |
| (ix) | Nom usuel | ... |

7. Probabilité de transfert génétique *in vivo* :

(a) De l'OGM à d'autres organismes se trouvant dans l'écosystème touché par la dissémination :

Un échange génétique potentiel du RN1250 à un virus de la maladie de Marek de type sauvage (wtMDV ou wild type MDV) est possible si les poulets vaccinés avec le RN1250 sont naturellement infectés avec un wtMDV et si une même cellule de ces poulets est infectée par les deux virus. Cela peut potentiellement conduire à un transfert de LTR de REV dans le génome du wtMDV au même emplacement exact que le RN1250 par recombinaison homologue. Un tel transfert, s'il a lieu, va diminuer la virulence du wtMDV, puisque l'insertion de LTR est connue pour atténuer le MDV.

La possibilité de recombinaison spontanée *in vivo* entre CVI988 et les deux autres sérotypes de virus de la maladie de Marek n'a jamais été démontrée, bien que les infections concomitantes soient courantes.

Bien que des milliards de poulets aient été vaccinés dans le monde avec du CVI988 seul ou en association, aucune transmission, aucun échange génétique et aucune pathologie n'ont été observés chez l'homme ou les autres espèces.

(b) D'autres organismes à l'OGM :

Un échange génétique potentiel du wtMDV à l'OGM est possible si la co-infection d'une même cellule a lieu chez un poulet doublement infecté. Un tel échange génétique peut impliquer les régions IRS-US-TRS du génome conduisant au remplacement de ces régions du RN1250 (contenant le LTR) par les régions correspondantes du wtMDV. Un tel échange ne pourra pas créer un virus plus virulent que le wtMDV puisque l'autre partie du génome (TRL-UL-IRL) sera issue du virus parental CVI988 et est connue pour contenir un marqueur d'atténuation.

Sinon, un tel échange génétique peut impliquer les régions TRL-UL-IRL du génome, conduisant au remplacement de ces régions du RN1250 par les régions correspondantes du wtMDV. Un tel échange ne pourra pas créer un virus plus virulent que le wtMDV puisque l'autre partie du génome (IRS-US-TRS) contiendra toujours le LTR qui est connu pour ses propriétés d'atténuation.

L'intégration de rétrovirus dans le génome de MDV a été décrite après co-infection de cellules avec les deux virus. L'insertion du génome entier du provirus de rétrovirus dans le génome de MDV est habituellement instable et la recombinaison entre deux LTR aura lieu et laissera seulement une copie du LTR (cicatrice de LTR) insérée dans son génome. L'insertion du LTR n'accroît pas la virulence du virus ; au contraire, habituellement elle l'atténue et annule ou décroît la tumorigenèse induite par le virus, lorsque l'insertion a lieu dans un MDV pathogène. La nature de la séquence insérée ne sous-entend pas un risque supplémentaire de sensibilité du RN1250 à l'intégration de rétrovirus, en comparaison avec un MDV non-recombinant. Si cela a lieu, il n'est pas attendu de conséquences différentes de celles faisant suite à l'insertion dans un génome de MDV parental.

(c) Conséquences probables d'un transfert de gènes

Voir ci-dessus en (a) et (b). Comme expliqué ci-dessus, le transfert potentiel de gène entre l'OGM et un MDV générera un virus quasi identique à l'OGM ou au MDV, avec des caractéristiques biologiques similaires. Les conséquences de l'insertion potentielle de LTR dans l'OGM ou le MDV de type sauvage seront similaires à celles ayant lieu dans un MDV, sans effets négatifs connus.

8. Indication des principaux résultats (le cas échéant) des études du comportement, des caractéristiques et de l'incidence écologique de l'OGM, menées sur des environnements naturels simulés (par exemple, microcosmes, etc.)

Le vaccin testé a été évalué au cours d'essais menés en laboratoire conformément à la directive européenne 2009/41/CE pour les études d'innocuité et d'efficacité, et conformément aux 9CFR américaines (Code of Federal Regulations).

Les essais de laboratoire ont été conduits chez des oiseaux sensibles (EOPS), dont l'espèce cible (poulets), mais aussi d'autres espèces domestiques sensibles (dindes, canards), des espèces sauvages (faisans, cailles, pigeons) et des rongeurs de laboratoire (souris).

Les essais dans l'espèce cible ont démontré l'innocuité du produit en ce qui concerne les critères de la maladie de Marek, en termes de réactions locales et générales, d'examen post-mortem, de réversion vers la virulence.

La comparaison avec la souche parentale n'a pas montré de modification suite à la modification génétique, en termes de dissémination, capacités à diffuser chez les poulets, et de persistance chez l'animal vacciné. Le RN1250 a même été moins détecté chez les animaux vaccinés que la souche parentale CVI988.

Les essais dans d'autres espèces ont montré l'innocuité du produit en termes de réactions locales et générales et d'examen post-mortem.

L'efficacité a été testée sur poulets EOPS et conventionnels, en utilisant des épreuves avec des souches très virulentes de la maladie de Marek.

9. Interactions potentiellement importantes sur le plan de l'environnement avec les phénomènes biogéochimiques (en cas de différences par rapport à l'organisme récepteur ou l'organisme parental)

Non applicable.

H. INFORMATIONS CONCERNANT LA SURVEILLANCE

1. Méthodes de surveillance des OGM

Sur le terrain, le virus peut être détecté ou quantifié par de nombreuses méthodes :

- ✓ L'amplification en chaîne par polymérase (PCR) spécifique conventionnelle ou en temps réel est la méthode de choix pour détecter spécifiquement l'OGM. Ce test peut être réalisé sur l'ADN total extrait des follicules plumeux ou des leucocytes du sang ou de la rate chez les animaux suspectés. Il peut également être fait à partir de la poussière du bâtiment d'élevage.
- ✓ L'OGM peut être isolé sur des fibroblastes d'embryon de poulet et plus précisément caractérisé par immunofluorescence (anti-MDV), PCR et/ou séquençage.

2. Méthodes de surveillance des effets des OGM sur l'écosystème

Les animaux recevant le vaccin seront observés de façon journalière et, conformément aux pratiques usuelles sur le terrain, seront monitorés régulièrement pour les paramètres de croissance d'un échantillon représentatif (par exemple consommation alimentaire, poids). Toute anomalie observée durant l'essai sera rapportée au moniteur en charge du monitoring

de l'essai pour BIAH. A la fois le moniteur, l'investigateur et l'éleveur seront informés de la nature des souches contenues dans le vaccin.

3. Méthodes de détection des transferts du matériel génétique inséré, de l'OGM à d'autres organismes

Les méthodes de choix pour la détection de transfert potentiel de matériel génétique inséré, de l'OGM à d'autres organismes, seront la PCR et le séquençage, soit directement sur un échantillon provenant d'un oiseau suspect, soit après isolement viral.

4. Etendue du site de surveillance (m²)

L'essai terrain sera limité à des fermes classiques de poulets de chair à longue durée de vie avec des bâtiments de 400 m² et maximum 2 m² d'espace extérieur par poulet. Le monitoring sera fait sur les fermes d'élevage.

5. Durée de la surveillance

Selon les dates actuelles de début de l'essai, l'étude sur animaux reproducteurs durerait 20 semaines au maximum.

6. Fréquence de la surveillance

Chaque animal recevra une injection de vaccin. Les animaux seront observés quotidiennement au cours des soins et de l'entretien des animaux. Le respect des conditions d'élevage habituelles sera vérifié. Toute anomalie au cours de l'essai sera rapportée au moniteur (en charge du monitoring de l'essai pour BIAH).

Le monitoring post-vaccinal sera effectué par une personne appropriée habituellement en charge des soins des animaux. Cette personne, pleinement informée de la nature des souches contenues dans le vaccin, pourra contacter le moniteur à tout moment. Le moniteur sera systématiquement informé si des réactions anormales ont lieu.

I. INFORMATIONS CONCERNANT LE TRAITEMENT DU SITE ET DES DECHETS APRES DISSEMINATION

1. Traitement du site après la dissémination

Le virus sera injecté par voie parentérale (confinement physique).

Tout matériel utilisé lors de la vaccination sera mis dans des containers spéciaux et éliminé selon les procédures usuelles pour les déchets infectieux.

Après la fin de l'essai, les bâtiments d'élevage seront nettoyés et désinfectés selon la procédure en vigueur sur les fermes. Cela inclut balayage, nettoyage à l'eau, détergent, rinçage et désinfection.

2. Traitement des OGM après la dissémination

Non applicable.

Comme dit plus haut, à la fin des séances de vaccination, toutes les ampoules de vaccin et les contenants à diluant (vides ou pleins) seront stockés dans des containers spécifiques qui seront ensuite éliminés.

3. (a) Type et volume des déchets produits

Ampoules en verre, aiguilles et seringues jetables, contenants à diluant.

Une ampoule de vaccin pour 1000 poulets.

(b) Traitement des déchets

Les déchets seront récupérés, puis détruits par incinération sous la responsabilité de BIAH.

J. INFORMATIONS CONCERNANT LES PLANS D'INTERVENTION EN CAS D'URGENCE

1. Méthodes et procédures prévues pour enrayer la dispersion des OGM en cas de propagation inattendue

Si une ampoule se casse accidentellement ou du vaccin se déverse lors du transport ou de la vaccination, ou encore en cas de mauvaise utilisation du vaccin testé, les mesures à prendre sont les mêmes que pour tout vaccin contre la maladie de Marek ou de Gumboro. La désinfection de la zone infectée sera effectuée avec du désinfectant et les déchets seront éliminés. Le nettoyage et la désinfection du bâtiment de poulet seront réalisés comme d'habitude.

Dans le cas d'une dispersion inattendue induisant des effets pathologiques (bien qu'impossible), le moniteur de l'essai sera informé et l'incident sera rapporté immédiatement aux autorités compétentes.

2. Méthodes prévues pour éliminer le ou les OGM des régions touchées

En cas d'accident (ampoules cassées) ou de contamination accidentelle de surfaces (murs, plafonds, zones de vaccination...), la désinfection sera assurée avec une solution désinfectante appropriée.

En cas de contamination de la peau des personnes en charge des procédures de vaccination, la zone contaminée sera traitée avec des désinfectants classiques (chlorhexidine, chlorure de benzalkonium...).

En cas de déversement important dû à une libération accidentelle (containers cassés), l'absorption avec un adsorbant disponible sera effectuée avant de laver avec un désinfectant approprié et d'éliminer le matériel en tant que déchet contaminé.

3. Méthodes envisagées pour l'élimination ou l'assainissement des végétaux, des animaux, des sols, etc., pouvant être exposés durant ou après la propagation

Voir 2. L'élimination des animaux vaccinés décédant durant l'étude sera faite de façon similaire à ceux qui sont morts après avoir reçu n'importe quel vaccin. Comme les autres

poulets élevés sur les fermes, tous les animaux inclus dans les études seront abattus pour entrer potentiellement dans la consommation humaine à la fin de la période d'élevage standard.

4. Plans de protection de la santé humaine et de l'environnement en cas d'apparition d'effets indésirables

En tant que produit congelé dans l'azote liquide, les procédures de sécurité classiques pour la manipulation devront être strictement suivies. Le contact avec le vaccin congelé ou l'azote liquide peut causer une gelure. Ce risque n'est pas spécifique à ce vaccin et doit être géré de façon similaire à tout produit congelé dans l'azote. Les utilisateurs sont au courant et entraînés à l'utilisation de tels vaccins congelés, et portent habituellement des gants et des lunettes ou des masques pendant les opérations de décongélation et d'ouverture des ampoules. Dans tous les cas, l'étiquette et la notice fournies avec le produit décrivent la procédure adéquate pour une reconstitution du vaccin en toute sécurité.

En cas d'injection accidentelle à l'homme, un médecin sera informé pour contrôle. Il est à noter que des milliards de doses de vaccin contenant HVT et/ou CVI988 sont utilisés chaque année pour protéger les poulets de la maladie de Marek ; on pourrait penser que des contacts accidentels sur la peau ou les muqueuses ainsi que des injections accidentelles à l'homme aient eu lieu mais aucune conséquence négative sur la santé humaine n'a été rapportée. Ces virus ne sont pas connus pour poser un risque de santé publique.

Le vaccin contenant la souche HVT FC126 est utilisé depuis les années 1970 dans le monde entier, en association ou non avec un vaccin vivant contre la maladie de Marek souche Rispens (sérotipe 1 comme la souche RN1250), et ce sans problème de sécurité. Aucun événement indésirable particulier n'est donc attendu lors de l'étude terrain avec ces deux souches vaccinales.

Le suivi post-vaccinal sera effectué par une personne habilitée, habituellement en charge des soins des animaux, et pleinement informée de la conduite de l'essai clinique et de la nature des souches contenues dans le vaccin testé. Ainsi, tout événement contraire sera rapporté par l'éleveur à l'Investigateur et sera notifié au Moniteur. Toute anomalie devra être rapportée à BIAH et aux autorités compétentes selon les pratiques de pharmacovigilance en vigueur.