

Résumé de l'évaluation des risques effectuée conformément au *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* (RRSN[O]) de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*, 1999

EAU-308, 309, 310, 311, 312 : Souches de rotavirus W179-9 (G1), SC2-9 (G2), 178-9 (G3), BrB-9 (G4), 179-4 (P1)

Le présent document vise à expliquer la décision réglementaire prise en vertu de la partie 6 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*, 1999 (LCPE 1999) concernant l'importation de cinq *souches de rotavirus* par Merck Frosst Canada Ltée en vue de leur introduction sur le territoire canadien. Les renseignements pertinents concernant les cinq *souches de rotavirus* ont été fournis conformément au paragraphe 3(1) du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* de la LCPE 1999. Même si les cinq souches sont contenues dans le produit sous forme de préparation, chaque souche de rotavirus est considérée comme une substance aux termes de l'article 3 de la LCPE 1999 et a, par conséquent, été évaluée individuellement. Toutefois, comme elles sont semblables, le présent document traitera des cinq *souches de rotavirus W179-9 (G1), SC2-9 (G2), 178-9 (G3), BrB-9 (G4), 179-4 (P1)*, tout en soulignant les particularités de chacune.

Le Bureau de l'évaluation et du contrôle des substances nouvelles de Santé Canada a évalué l'information soumise par Merck Frosst Canada Ltée, ainsi que d'autres données scientifiques disponibles en vue de déterminer si les cinq *souches de rotavirus* sont *toxiques*¹ ou sont capables de devenir *toxiques*, selon la définition donnée à l'article 64 de la LCPE 1999.

Décision réglementaire :

En tenant compte des questions de danger et d'exposition et d'après l'évaluation des risques, Santé Canada a conclu que les *souches de rotavirus W179-9 (G1), SC2-9 (G2), 178-9 (G3), BrB-9 (G4), 179-4 (P1)* ne sont pas considérées comme *toxiques* pour l'environnement ou la santé humaine au Canada au sens de l'article 64 de la LCPE 1999. Ainsi, l'importation de ces *souches de rotavirus* en vue de leur introduction sur le territoire canadien est permise après le 19 avril 2006.

Les évaluations ne comprennent pas d'évaluation des risques pour la santé humaine dans un environnement professionnel ni de l'exposition et des risques possibles pour la santé humaine associés à l'utilisation des organismes dans un produit assujéti à la *Loi sur les aliments et drogues* ou en tant qu'élément d'un produit assujéti.

Annexe du RRSN(O) : 1 (importation de microorganisme destiné à être introduit sur le territoire canadien)

Identification des organismes : *souches de rotavirus* : W179-9 (G1), SC2-9 (G2), W178-9 (G3), BrB-9 (G4), W179-4 (P1)

Déclarant : Merck Frosst Canada Ltée, 16711 autoroute Transcanadienne

¹ Conformément à l'article 64 de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement*, 1999 (LCPE 1999), est toxique toute substance qui pénètre ou peut pénétrer dans l'environnement en une quantité ou concentration ou dans des conditions de nature à : a) avoir, immédiatement ou long terme, un effet nocif sur l'environnement ou sur la diversité biologique; b) mettre en danger l'environnement essentiel pour la vie; c) constituer un danger au Canada pour la vie ou la santé humaines.

Kirkland (Québec) H9H 3L1

Date de la décision : 19 avril 2006

Utilisation proposée : Composants d'un vaccin oral à virus vivant atténué (préparation) pour la prévention de la gastro-entérite à rotavirus chez les nourrissons et les enfants

Historique de la souche / Réassortiment génétique :

Les cinq microorganismes déclarés par Merck Frosst Canada Ltée, les *souches de rotavirus W179-9 (G1), SC2-9 (G2), 178-9 (G3), BrB-9 (G4), 179-4 (P1)*, entrent dans la composition d'un vaccin pentavalant oral vivant atténué, RotaTeq^{MD}, présenté au tableau 1. Les souches mères des rotavirus réassortis ont été isolées chez des hôtes humains et bovins. Quatre virus réassortis expriment une des protéines de la capside externe (G1, G2, G3, ou G4) de la souche mère du rotavirus humain et la protéine de fixation (sérotypage P7) de la souche mère du rotavirus bovin. Le cinquième virus réassorti exprime la protéine de la capside externe G6 de la souche mère du rotavirus bovin et la protéine de fixation P1A[8], de la souche mère du rotavirus humain. Les virus réassortis sont cultivés sur cellules Vero au moyen de techniques de culture cellulaire standard, en l'absence d'agents antifongiques.

Tableau 1 : Souches de rotavirus utilisées dans la préparation du vaccin RotaTeq^{MD}

Nom de la souche réassortie	Souches mères du rotavirus humain et composition protéinique de la capside externe	Souche mère du rotavirus bovin et composition protéinique de la capside externe	Composition protéinique de la capside externe des souches réassorties (composant du rotavirus humain en caractères gras)
G1	WI79 – G1, P1A[8]	WC3 - G6, P7[5]	G1 , P7[5]
G2	SC2 – G2, P2A[6]		G2 , P7[5]
G3	WI78 – G3, P1A[8]		G3 , P7[5]
G4	BrB – G4, P2A[6]		G4 , P7[5]
P1	WI79 – G1, P1A[8]		G6, P1A[8]

Les souches ci-dessus ont été atténuées à l'aide de techniques de laboratoire standard en microbiologie par la culture de cellules de certains mammifères. La constitution génétique de clones de chaque souche réassortie a été comparée avec celle des souches mères par électrophorèse en gel polyacrylamide et par séquençage nucléotidique.

L'analyse des séquences de certaines souches déclarées a montré une différence de seulement un nucléotide entre la séquence de nucléotides des souches déclarées et les séquences des souches mères de rotavirus utilisées comme référence, ce qui c'est traduit dans chaque cas par une substitution d'un acide aminé. Toutefois, le profil protéique des cinq souches déclarées montre la présence des mêmes protéines virales dans trois échantillons de validation des procédés et dans deux échantillons de lots de production. Ces résultats donnent à penser que la probabilité d'expression de caractères nouveaux non prévus ou d'introduction de matériel génétique non caractérisé est significativement faible.

Examen des dangers :

Réassortiments génétiques

Les souches déclarées peuvent potentiellement se réassortir avec des souches sauvages animales ou humaines virulentes, ce qui peut entraîner la création de plusieurs nouveaux génotypes ou la réversion vers un phénotype virulent. Toutefois, seules quelques souches de

rotavirus humains présentent une forte homologie avec les 11 gènes des rotavirus animaux, ce qui porte à croire que les réassortiments interspèces causent rarement la gastro-entérite chez les animaux [1]. Il est donc peu probable que les souches déclarées excrétées subissent un réassortiment provoquant des effets indésirables chez des espèces non humaines.

Risque environnemental

Malgré l'omniprésence des rotavirus humains ou bovins en milieu naturel, aucune pathogénicité pour les plantes terrestres ou aquatiques et d'autres espèces aquatiques n'a été rapportée. Seules quelques études ont fait état de l'effet pathogène des rotavirus chez les invertébrés terrestres. On a montré en laboratoire qu'une pseudo particule rotavirale est pathogène chez *Microplitis croceipes*, une espèce de guêpe parasite de la Géorgie aux États-Unis [2-3]. Néanmoins, l'infection à rotavirus est la cause principale de la gastro-entérite virale grave et potentiellement mortelle chez les mammifères terrestres et les oiseaux. Des preuves scientifiques substantielles ont démontré la nature et l'importance de la pathogénicité, de la virulence et de l'infectiosité des rotavirus chez les animaux et les oiseaux, notamment les visons, les rats laveurs, les mouffettes, les veaux, les poulains, les porcs, les chiens, les antilopes, les addax, les impalas, les chevreuils, les gazelles, les moutons, les lapins, les chats, les poulets, les dindes et les cailles [4-12].

Afin de prouver l'innocuité du vaccin chez les vertébrés terrestres, le déclarant a effectué une étude de toxicité de dix semaines comportant l'administration d'une seule dose ou de doses multiples par voie orale chez des souris. Les résultats montrent que l'administration par voie orale selon un schéma posologique à une ou à trois doses était bien tolérée. Le traitement n'a pas eu d'effet sur la mortalité, les signes physiques, le poids corporel, l'alimentation et les paramètres hématologiques ou biochimiques.

Il est peu probable que les souches déclarées infectent des espèces non humaines puisqu'elles portent toutes des protéines spécifiques à un hôte humain. Comme les souches déclarées sont atténuées, elles ont une moins grande capacité de se répliquer et d'infecter si elles sont transmises à des cellules hôtes non humaines. Donc, la probabilité que des souches déclarées excrétées subissent un réassortiment causant des effets indésirables chez des espèces non humaines est faible.

Danger pour la santé humaine

Les souches de rotavirus humains d'origine naturelle sont des pathogènes classés dans le groupe de risque 2 par l'Agence de la santé publique du Canada. Même s'il existe plusieurs groupes et sérotypes de rotavirus pathogènes, la majorité des souches pathogéniques chez l'humain appartiennent aux sérotypes G1 à G4. Les rotavirus du groupe A sont les plus importants du point de vue de la santé publique et sont la principale cause de gastro-entérite virale chez les prématurés, les enfants de 6 mois à 2 ans, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées. On estime que les rotavirus sont à l'origine de 25 % des décès attribués aux affections diarrhéiques et de 6 % des décès chez les enfants de moins de 5 ans [13]. Le tableau clinique de l'affection varie, mais celle-ci est en général spontanément résolutive et d'installation brutale, elle se caractérise par diverses combinaisons des manifestations suivantes : diarrhée, nausées, vomissements et fébricule [14].

Deux mécanismes principaux sont impliqués dans la diarrhée causée par les rotavirus : la malabsorption et la sécrétion. La malabsorption semble reliée à la primo-infection par le virus. Le mécanisme causant la diarrhée serait déclenché par la perturbation de l'homéostasie du Ca^{+} . La sécrétion intestinale serait pour sa part stimulée par l'activation du système nerveux entérique et l'action de la protéine virale NSP4. Le procédé de réassortiment utilisé pour produire les souches

vaccinales déclarées entraîne un dérèglement du mécanisme d'entrée ou de fixation du virus, ce qui prévient la cascade de réactions entraînant la gastro-entérite chez l'humain.

Selon la description du déclarant, le vaccin RotaTeq^{MD} protège contre la gastro-entérite à rotavirus chez les humains, en stimulant une réponse immunitaire antivirale semblable à celle résultant des infections à rotavirus d'origine naturelle. Le vaccin a été approuvé par la Food and Drug Administration des États-Unis en février 2006 [15]. Les résultats de l'essai clinique de phase III menée chez plus de 70 000 nourrissons vaccinés montrent que le vaccin est efficace contre les gastro-entérites à rotavirus modérées et sévères, aucune réaction immunologique indésirable n'a été signalée.

Des cas de réversion vers un phénotype virulent ont été signalés pour des vaccins vivants atténués traditionnels, particulièrement pour le vaccin antipoliomyélitique oral [16-18]. Toutefois, comme les souches déclarées sont dérivées de souches mères de rotavirus humains et bovins, la réversion nécessiterait de multiples passages en culture cellulaire pour retrouver la constitution génétique des souches mères pathogènes, ce qui est peu probable.

La transmission horizontale des souches déclarées n'a pas été étudiée par le déclarant puisque les souches réassorties sont faiblement excrétées par les nourrissons vaccinés. Il serait donc impossible de constituer un échantillon de taille suffisante pour effectuer une étude significative de la transmission.

Examen des aspects liés à l'exposition :

Les microorganismes déclarés seront importés sous la forme de la préparation vaccinale finie RotaTeq^{MD} de Merck & Co. Inc. aux États-Unis.

Le risque d'exposition à l'ADN résiduel des lignées de cellules Vero ou à d'autres contaminants adventices dans le produit fini est négligeable en raison d'une surveillance étroite au cours du processus de validation et d'homologation du vaccin. Le déclarant a décrit des mesures qui limitent l'exposition des travailleurs en cas de fuites ou de déversements accidentels au cours de l'entreposage, de la manipulation et du transport du vaccin. Ces mesures comprennent notamment le port d'équipement de protection et un traitement à l'hypochlorite de sodium.

Afin de réduire au minimum l'exposition environnementale et humaine potentielle aux souches déclarées, des procédures sont en place pour le traitement et l'élimination des déchets contaminés. Les vaccins inutilisés et les déchets générés durant le processus normal de vaccination seront jetés dans des contenants pour déchets biologiques et éliminés selon la réglementation locale. Tous les produits rappelés, inutilisés et périmés doivent être envoyés à Merck Frosst dans leur emballage original et traités comme des déchets pharmaceutiques. Le rejet accidentel d'une dose dans un établissement de santé doit être décontaminé soit par la chaleur ou à l'aide d'un autoclave à 120 °C pendant 45 minutes, soit à l'aide d'éthanol à 95 % ou de composés phénoliques, par exemple Vesphene et LpH, afin d'inactiver rapidement et efficacement le rotavirus.

Le mode le plus probable de rejet dans l'environnement des souches déclarées est l'émission accidentelle par des nourrissons ou des enfants vaccinés de matières fécales dans des plans d'eau réservés à la baignade comme les lacs, les rivières et les piscines, ou le rejet de selles humaines dans des sites d'enfouissement. Comme les sites d'enfouissement sont rarement confinés, les animaux vertébrés et invertébrés peuvent entrer directement en contact avec les selles dans les sites à ciel ouvert.

Il est également possible que certaines plantes aquatiques et terrestres ainsi que certains animaux vertébrés et invertébrés soient exposés aux souches réassorties de rotavirus par l'irrigation de terres agricoles par des eaux usées ou par la fertilisation par des eaux d'égout et par des eaux de surface ou souterraines non traitées. Il peut s'agir d'espèces communes ayant une importance économique, comme les animaux d'élevage (bovins, volaille, etc.) ainsi que les poissons et les cultures agricoles.

Persistance et dispersion

Les rotavirus d'origine naturelle sont très présents dans l'environnement et peuvent survivre dans de nombreuses niches écologiques, notamment les écosystèmes aquatiques et estuariens, les eaux souterraines, le sol et les sédiments. Les rotavirus humains et animaux pénètrent dans les milieux aquatiques principalement par le biais du rejet des eaux usées. Les rotavirus présents dans les effluents d'eaux usées sont déversés dans les milieux aquatiques où ils peuvent s'accumuler et persister dans les sédiments plus longtemps que dans la colonne d'eau [19].

Il a été établi que les rotavirus présentent une stabilité élevée à 4 °C, une stabilité moindre à 20 °C et une faible stabilité à 37 °C [20]. Il a été démontré qu'ils sont stables dans l'eau potable à 4 °C pendant une période pouvant aller jusqu'à 64 jours [21]. On a signalé que les virus ont résisté pendant près de deux ans dans des eaux souterraines protégées dont la température est généralement inférieure à 10 °C. Dans les milieux dont le pH se situe entre 5 et 9, ils peuvent persister pendant une période prolongée qui peut se mesurer en heures ou en mois [22].

Étant donné que le taux d'excrétion de RotaTeq^{MD} est faible, le risque de transmission à des espèces non visées, des souches vaccinales excrétées est minime. On s'attend à ce que plusieurs facteurs clés, notamment le nombre d'organismes excrétés, la spécificité d'hôte du rotavirus et divers facteurs environnementaux comme la température, le pH, la lumière, la composition du sol, le degré d'humidité, la présence de matières organiques, les particules en suspension, la concentration en sel, les produits chimiques antiviraux et l'activité microbienne, limitent la dispersion et la persistance des souches vaccinales atténuées dans l'environnement. Contrairement aux rotavirus d'origine naturelle, il semble peu probable que les souches déclarées puissent survivre assez longtemps pour être nuisibles et pour potentiellement s'implanter et se disperser dans l'environnement.

Les rotavirus sont transmis principalement par la voie oro-fécale. Les personnes infectées par des rotavirus d'origine naturelle peuvent excréter entre 10^{10} et 10^{12} unités infectieuses par gramme de selles. Le « Rotavirus Efficacy and Safety Trial », un essai préalable à l'homologation, a montré que RotaTeq^{MD} a un faible taux d'excrétion : 8,9 %, 0 % et 0,3 % après les première, deuxième et troisième doses, respectivement. Certains rotavirus sont vraisemblablement inactivés par les traitements physiques, biologiques et chimiques dans les stations d'épuration des eaux usées. Toutefois, même si on présume que les souches déclarées ne sont pas inactivées, on ne s'attend pas, en raison des faibles taux d'excrétion observés, à ce que les virus atténués soient présents dans l'environnement à des concentrations plus élevées que les rotavirus naturellement présents. Par conséquent, l'exposition environnementale et humaine indirecte aux souches déclarées par la voie oro-fécale est sans doute moins importante que l'exposition à des rotavirus virulents d'origine naturelle.

Références :

1. Gentsch, J.R., Laird, A.R., Bielfelt, B., Griffin, D.D., Banyai, K., Ramachandran, M., Jain, V., Cunliffe, N., Nakagomi, O., Kirkwood, C., Hoshino, Y., Fischer, T.K., Parashar, U., Bresee, J.S., Jiang, B., and Glass, R.I. (2005). Serotype diversity and reassortment

between human and animal rotavirus strains: Implications for rotavirus vaccine programs. *J Infect Dis.* 192 (Suppl 1): S146-S159.

2. Hamm, J.J., Styer, E.L., and Steiner, W.W. (1994). Reovirus-like particle in the parasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae). *J Invertebr Pathol.* 63 (3): 304-306.
3. Brooks, W.M. (1993). Host-parasitoid-pathogen interactions; Chapter 11. In Ignoffo, C.M., et al. [eds.] *Parasites and Pathogens of Insects*. Vol. 2: Pathogens. Academic Press. Inc.
4. Jarplid, B. and Mejerland, T. (1998). Villous atrophy in the small intestine of mink kits with diarrhea. *Scientifur.* 22:157-160.
5. Evans, R.H. (1984). Rotavirus-associated diarrhea in young raccoons (*Procyon lotor*), striped skunks (*Mephitis mephitis*) and red foxes (*Vulpes vulpes*). *J Wildlife Dis.* 20(2): 79-85.
6. McNulty, M.S. (1983). Rotavirus infections in calves. *Ann Rech. Vet.* 14(4): 427-32.
7. Browning, G.F. and Begg, A. P. (1996). Prevalence of G and P serotypes among equine rotaviruses in the faeces of diarrhoeic foals. *Arch Virol.* 141(6): 1077-89.
8. Baumeister, B.M., Castro, A.E., McGuire-Rodgers, S.J., and Ramsay, E.C. (1983).
9. Eugster, A.K., Strother, J., and Hartfiel, D.A. (1978). Rotavirus (reovirus-like) infection of neonatal ruminants in a zoo nursery. *J Wildl Dis.* 14(3):351-4.
10. Thouless, M.E., DiGiacomo, R.F., Deeb, B.J., and Howard, H. (1988). Pathogenicity of rotavirus in rabbits. *Clin Microbiol.* 26(5): 943-7.
11. Yason, C.V., Summers, B.A., and Schat, K.A. (1987a). Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: pathology. *Am J Vet Res.* 48(6):927-38.
12. Yason, C.V. and Schat, K.A. (1987b). Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: clinical signs and virology. *Am J Vet Res.* 48(6): 977-83.
13. Organisation mondiale de la santé (OMS). (1999). *Vaccins antirotavirus: Note d'information de l'OMS . Relevé épidémiologique hebdomadaire.* 74: 33-40.
14. Cukor, G. and Blacklow, N.R. (1984). Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev.* 48(2):157-179.
15. Food and Drug Administration (FDA). (2006). FDA News: FDA Approves New Vaccine to Prevent Rotavirus Gastroenteritis in Infants. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/2006/ucm108588.htm> (en anglais seulement)
16. Cizman, M., Mozetic, M., Radescek-Rakar, R., Pleterski-Rigler, D., and Susec-Michieli, M. (1989). Aseptic meningitis after vaccination against measles and mumps. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 8: 302-308.
17. Minor, P.D. (1993). Attenuation and reversion of the Sabin vaccine strains of poliovirus. *Developments in Biological Standardization.* 78: 17-26.
18. Fine, P.E. and Carneiro, I.A. (1999). Transmissibility and persistence of oral polio vaccine viruses: implications for the global poliomyelitis eradication initiative. *Am J Epidemiol.* 150 (10): 1001-21.
19. Smith, E.M., Gerba, C.P., and Melnick, J.L. (1978). Role of sediment in the persistence of enteroviruses in the estuarine environment. *Appl Environ Microbiol.* 35: 685-689.
20. Moe, K. and Shirley, J.A. (1982). The effects of relative humidity and temperature on the survival of human rotavirus in faeces. *Arch Virol.* 72(3): 179-86.
21. Sattar, S.A., Raphael, R.A., and Springthorpe, V.S. (1984). Rotavirus survival in conventionally treated drinking water. *Can J Microbiol.* 30(5): 653-6.
22. Gerba, C.P. (1984). Applied and Theoretical Aspects of Virus Adsorption to Surfaces. *Advances in Applied Microbiol.* 30: 133-168.