

**Résumé de l'évaluation des risques effectuée conformément au
Règlement sur les renseignements concernant les substances
nouvelles (organismes) de la Loi canadienne sur la protection de
l'environnement (1999)
EAU-425 : souche de *Rotavirus* RIX4414**

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)] et du *Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes)* [RRSN(O)] concernant l'importation de la souche de *Rotavirus* RIX4414 par GlaxoSmithKline Inc. en vue d'être utilisée comme composant d'un vaccin vivant atténué administré oralement pour prévenir les gastroentérites à rotavirus chez les nourrissons. Toutefois, conformément à la réglementation mentionnée ci-dessus, cette utilisation prévue permet aussi que cette souche soit introduite partout au Canada.

Les renseignements concernant la souche de *Rotavirus* RIX4414 ont été fournis conformément au paragraphe 3(1) du RRSN(O).

Le Bureau de l'évaluation et du contrôle des substances nouvelles de Santé Canada a évalué l'information soumise par GlaxoSmithKline Inc. ainsi que d'autres données scientifiques existantes pour déterminer si la souche de *Rotavirus* RIX4414 conforme aux critères donnés à l'article 64 de la LCPE (1999)¹.

Décision réglementaire

En tenant compte des questions de danger et d'exposition, l'évaluation des risques effectuée par Santé Canada a conclu que la souche de *Rotavirus* RIX4414 n'engendre aucun effet nocif pour l'environnement ou la santé humaine au Canada au sens de l'article 64 de la LCPE (1999). Ainsi, après le 4 août 2008, l'importation de la souche de *Rotavirus* RIX4414 en vue de son introduction sur le territoire canadien est permise.

Cette évaluation ne comprend pas une évaluation des risques pour la santé humaine dans le milieu professionnel, ni une évaluation de la substance déjà prévue par la *Loi sur les aliments et drogues*.

Annexe du RRSN(O) : 1 (importation d'un micro-organisme en vue de son introduction sur le territoire canadien)

Identification de l'organisme : souche de *Rotavirus* RIX4414

Déclarant : GlaxoSmithKline Inc., 7333, chemin Mississauga, Mississauga, Ontario, L5N 6L4

Date de la décision : 4 août 2008

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 à 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.

Utilisation proposée : composant du vaccin vivant atténué oral Rotarix^{MC} utilisé pour prévenir les gastroentérites à rotavirus chez les nourrissons âgés de 6 à 24 semaines.

HISTORIQUE DE LA SOUCHE/RÉASSORTIMENT GÉNÉTIQUE

Les rotavirus sont classés dans le genre *Rotavirus* de la famille des *Reoviridae*. Il existe sept espèces de rotavirus, catégorisées en sept groupes soit A, B, C, D, E, F et G. Chacun est classé en types G et P, ces types étant déterminés par la présence de deux protéines virales de la couche externe, soit VP7 et VP4, respectivement. Il a été établi que les rotavirus du groupe A ayant les génotypes G1 à G4 et [P4] ou [P8] causent le plus fréquemment les maladies à rotavirus chez l'humain, G1[P8] étant le génotype le plus répandu (Santos et Hoshino, 2005; Gentsch et al., 1996).

La souche de *Rotavirus* RIX4414 provient d'une souche de rotavirus G1P[8] humain isolée des matières fécales d'un nourrisson présentant une infection à rotavirus symptomatique en 1988. La souche a d'abord été mise en culture dans des cellules rénales primaires de singe vert d'Afrique au J. Gamble Institute of Medical Research à Cincinnati, aux États-Unis, pour subir 26 passages (P26). Le P26 a, par la suite, été transféré à Dyn Corporation où il a été atténué davantage pour développer le passage 33 (P33), appelé souche 89-12. AVANT Therapeutics, Inc. a alors entamé la mise au point de la souche 89-12 comme vaccin dans le cadre d'essais précliniques et cliniques. La souche de *Rotavirus* RIX4414 atténuée a été développée à partir de la souche 89-12 ayant servi de candidat pour le vaccin.

Le génotype G1[P8] de la souche RIX4414 déclarée a été confirmé par RT-PCR à l'aide d'amorces spécifiques à des génotypes G et P différents (Gouvea et al., 1990; Gentsch et al., 1992), et par séquençage des gènes VP4 et VP7.

EXAMEN DES DANGERS

Risque environnemental

D'après les données, certains rotavirus appartenant à d'autres familles de rotavirus et possédant différents génotypes sont capables d'infecter des vertébrés terrestres, notamment des visons, des rats laveurs, des moufettes, des veaux, des poulains, des chiens, des antilopes, des addax, des impalas, des cervidés, des gazelles, des chèvres, des lapins, des chats, des poulets, des dindes et des cailles (Bohl et al., 1978; Jarplid et Mejerland, 1998; Evans, 1984; Browning et Begg, 1996; Baumeister et al., 1983; Eugster et al., 1978; Thouless et al., 1988; Yason et Schat, 1987). Bien que les humains et les animaux partagent plusieurs génotypes, surtout G3, G6 et G8 (Desselberger et al., 2001), seules quelques souches ayant le génotype G1 ont été décelées chez des animaux (Blackhall et al., 1992; Ciarlet et Liprandi, 1994). Il ne s'agit pas d'agents pathogènes induisant une diarrhée que l'on décèle fréquemment chez les animaux (Steyer et al., 2006). Des études précliniques menées chez des rats Fischer F344 âgés de 5 et de 21 jours ayant reçu par voie orale quatre doses de vaccin à rotavirus de $1,0 \times 10^6$ DICC₅₀ (spécificité à G1[P8]) à deux semaines d'intervalle n'ont indiqué aucun effet toxique. On

a accordé au déclarant la permission de ne pas fournir de données sur la pathogénicité pour ce qui est des plantes terrestres et aquatiques, des invertébrés et des vertébrés, car des preuves tirées de la littérature scientifique indiquent que les rotavirus humains infectent une gamme limitée d'hôtes et présentent un tropisme tissulaire très spécifique.

Dans l'éventualité peu probable d'une transmission de la souche déclarée à des hôtes non humains, il est prévu que la souche de *Rotavirus* RIX4414 présente une capacité considérablement réduite de causer des effets pathogènes en raison de son atténuation comparativement au rotavirus humain de type sauvage. Par conséquent, les risques qu'elle pose pour l'environnement, la conservation des espèces et la diversité biologique sont considérés faibles.

Risque pour la santé humaine

Différents groupes de rotavirus existent. Des cas d'infection aux rotavirus B et C ont été signalés, mais les rotavirus du groupe A sont les plus importants du point de vue de la santé publique (OMS, 2007) et constituent la principale cause de gastroentérite virale chez les nourrissons prématurés, les enfants de 6 mois à 2 ans, les personnes âgées et les personnes immunodéprimées (Santé Canada, 2004). Une exposition préalable confère une immunité protectrice envers toutes les infections subséquentes à rotavirus, à la fois chez les adultes et les enfants. Les décès sont causés par une déshydratation grave attribuable aux diarrhées.

Le vaccin Rotarix^{MC}, contenant la souche déclarée, a été mis au point dans le but de protéger les humains (nourrissons âgés de 6 à 24 semaines), plus particulièrement pour prévenir la gastroentérite causée par les souches de rotavirus G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] et G9P[8]. Le vaccin stimule l'organisme à induire une réponse immunitaire à une infection à rotavirus simulée. La Food and Drug Administration des États-Unis a homologué le vaccin en avril 2008 (FDA, 2008), et le vaccin est actuellement autorisé dans plus de 100 pays dans le monde. Le déclarant a présenté des résultats d'études cliniques de phase III obtenus chez 80 705 nourrissons vaccinés dans différentes régions géographiques du monde. Ces résultats indiquent que le vaccin était efficace contre les gastroentérites à rotavirus modérées ou sévères. Chez l'adulte, Zibrik et al. (2007) ont signalé que les volontaires ayant reçu une dose orale du vaccin Rotarix^{MC}, soit la même dose que l'on recommande chez le nourrisson, n'ont pas présenté de symptômes de gastroentérite.

Étant donné que la souche du vaccin a été atténuée après de multiples passages en culture de cellules primaires et en culture de lignée cellulaire et qu'elle a été par la suite l'objet d'essais randomisés et avec placebo pour évaluer son efficacité et son innocuité dans le monde, son utilisation n'est pas censée causer d'effets indésirables dans la population générale. Le risque qu'elle présente pour la santé humaine est donc considéré faible.

Stabilité génétique/réassortiment

Aucun signe de réversion de la virulence n'a été observé au cours des essais cliniques. Le rotavirus du vaccin peut subir un réassortiment génétique lorsqu'il rencontre d'autres rotavirus humains de type sauvage. Toutefois, on s'attend à ce que le virus subissant le réassortiment ne soit pas plus virulent que le type sauvage et qu'il n'obtienne pas d'avantage assurant sa survie dans l'environnement. L'éventualité d'un réassortiment entre les espèces, soit entre rotavirus d'origines féline, canine, équine, porcine, bovine et humaine, a été l'objet d'études approfondies, et seules quelques souches de rotavirus humains présentent une forte homologie avec les 11 gènes des rotavirus animaux (Gentsch et al., 2005). Cela laisse croire que le réassortiment entre espèces peut survenir, mais rarement.

La souche déclarée peut subir un réassortiment avec des rotavirus de type sauvage dans l'environnement; cependant, la probabilité que ce type de réassortiment cause des effets indésirables aux humains et à l'environnement est faible.

EXAMEN DES ASPECTS LIÉS À L'EXPOSITION

Le micro-organisme déclaré sera importé de GlaxoSmithKline Biologicals, en Belgique, à l'Ontario. Le vaccin sera expédié sous forme d'une préparation liquide. Avant l'exportation vers le Canada, le déclarant analysera le produit en vrac pour y déceler la présence d'impuretés dans le cadre du processus de validation et de certification du vaccin. Ces impuretés comprennent notamment l'ADN résiduel de cellules Vero et ainsi que les agents transmissibles et infectieux, tels que les *Mycoplasma* et les rétrovirus.

Afin de réduire au minimum l'exposition potentielle des humains et des animaux sauvages à la souche du vaccin, des mesures sont en place pour traiter et éliminer les déchets contenant l'organisme déclaré. L'organisme déclaré sera distribué à des professionnels de la santé et dans des établissements de santé. Tout vaccin non utilisé et déchet produit au cours d'une vaccination normale seront jetés dans des contenants pour déchets biologiques approuvés et éliminés conformément à la réglementation provinciale.

Des plans de contingence sont prévus en cas de déversement ou de fuite accidentels au cours du reconditionnement, du transport et de l'administration. Le déclarant a décrit des mesures qui limitent l'exposition humaine en cas de fuite ou de déversement accidentels, y compris l'utilisation de vêtements protecteurs et d'oxydants pour décontaminer les surfaces.

Persistance et dispersion

Les rotavirus naturels sont largement répandus dans l'environnement et peuvent survivre dans de nombreuses niches écologiques, notamment les écosystèmes aquatique et estuarien, les eaux souterraines, le sol et les sédiments. Leur présence a été décelée dans des eaux d'égout brutes et des eaux usées à une concentration de 90 700 particules virales par litre et de 10 à 218 particules virales par litre, respectivement (Abbaszadegan, 2006).

Les rotavirus sont principalement transmis par la voie oro-fécale. Il est prévu que la souche déclarée se retrouve dans l'environnement, principalement en raison de l'élimination des fèces dans les égouts sanitaires, l'élimination des couches souillées dans des sites d'enfouissement de déchets solides et la contamination accidentelle de plans d'eau. Bien que la réplication du virus ne survient pas hors d'un hôte vivant, les virus entériques peuvent demeurer stables dans les environnements terrestre et aquatique pendant des mois.

Les rotavirus survivent dans l'eau potable pendant une période pouvant aller à 64 jours à 4 °C (Satar et al., 1984). Il a été démontré que des virus entériques ont persisté pendant près de deux ans dans des eaux souterraines protégées dont la température est généralement inférieure à 10 °C (Santé Canada, 2004). Les rotavirus sont relativement stables dans les eaux usées, leur nombre étant le plus grand en automne et en hiver. L'infectivité se perd plus rapidement à 37 °C qu'à 20 °C ou à 4 °C, peu importe le degré d'humidité (Moe et Shirley, 1982). Elle peut persister sur des surfaces sèches inanimées pendant environ deux mois (Kramer et al., 2006).

Certains organismes aquatiques et terrestres, en particulier des espèces agricoles ayant une importance économique, pourraient être exposés à la souche déclarée par l'ingestion de récoltes cultivées sur des sols enrichis de boues d'épuration ou d'eaux souterraines contaminées à la suite d'une irrigation des terres agricoles par des eaux usées et/ou la fertilisation de ces terres à l'aide de boues d'épuration (Mara et al., 2007), ou par la percolation de l'eau de pluie dans les sites d'enfouissement, la fuite d'effluents destinés au champ d'épuration ou l'infiltration d'eaux de surface contaminées par les eaux souterraines (Bitton, 1999; Hurst et al., 2001). La présence de la souche déclarée dans l'eau potable pourrait être attribuable à l'absence de traitements, à une désinfection ou au traitement insuffisant d'une eau de surface présentant une concentrations élevée de la souche déclarée (Gutierrez et al., 2007; Payment et Armon, 1989; Gerba et Rose, 1990; Payment et al., 1997).

Les rotavirus humains naturels sont excrétés à une concentration de 10^{10} à 10^{12} unités infectieuses par gramme de matière fécale (Abbaszadegan, 2006). L'excrétion de la souche RIX4144 dans les matières fécales a été mesurée au cours d'essais cliniques réalisés avec un sous-groupe de sujets. Le taux d'excrétion du virus de Rotarix^{MC} après la vaccination de nourrissons était de 14,6 %, comparativement à 68,6 % chez les sujets témoins atteints d'une gastroentérite induite par un rotavirus de type sauvage au cours d'essais cliniques. À l'aide d'un modèle permettant de prédire la concentration du rotavirus dans l'environnement, en présumant aucune inactivation avant le rejet, il a été estimé que la concentration dans l'eau de surface pour un taux d'excrétion d'environ 14,6 % est faible ($1,87 \times 10^{-5}$ DICC₅₀/L). En tenant compte de cette valeur prévue, l'apport quotidien de contaminants dans l'eau potable a aussi été calculée comme étant faible ($1,43 \times 10^{-7}$ DICC₅₀/kg de poids corporel/jour chez l'adulte et $3,01 \times 10^{-7}$ DICC₅₀/kg de poids corporel/jour chez l'enfant).

Il est prévu que l'élimination des matières fécales provenant de couches souillées dans les sites d'enfouissement réduise la quantité de micro-organismes (souche déclarée) rejetés

dans les eaux de surface. Bien que la concentration de virus du vaccin rejeté dans les sites d'enfouissement ne puisse pas être calculée avec exactitude en raison de la complexité des variables, notamment la taille et le lieu du site d'enfouissement, la vitesse d'élimination et d'autres sources de déchets, la concentration de la pire éventualité a été estimée à 4,2 DICC₅₀/tonnes de déchets solides.

Comme la souche du vaccin est atténuée, que le vaccin est uniquement administré aux nourrissons et qu'il existe un certain confinement dans les sites d'enfouissement et une élimination dans les usines de traitement des eaux usées, il est prévu que la concentration éventuelle de la souche de rotavirus déclarée dans l'environnement soit considérablement plus faible que celle des rotavirus naturels. Par conséquent, l'exposition humaine et environnementale potentielle à la souche de *Rotavirus* RIX4414 (à l'exception des humains exposés directement en raison de l'immunisation) est jugée faible.

CHARACTÉRISATION DU RISQUE

En tenant compte des questions de danger et d'exposition, l'évaluation des risques effectuée par Santé Canada a conclu que la souche de *Rotavirus* RIX4414 n'engendre aucun effet nocif pour l'environnement ou la santé humaine au Canada au sens de l'article 64 de la LCPE (1999).

RÉFÉRENCES

Abbaszadegan, M. (2006). Chapter 46: Rotaviruses. In *Manual of Water Supply Practices: Waterborne Pathogens-M48*. Second Edition. American Water Works Association. Denver, Colorado. pp 295-298.

Baumeister, B.M., Castro, A.E., McGuire-Rodgers, S.J., and Ramsay, E.C. (1983). Detection and control of rotavirus infections in zoo animals. *J Am Vet Med Assoc.* 183(11):1252-4.

Bitton, G. (1999). *Wastewater microbiology*. 2nd edition. Wiley-Liss, New York, NY.

Blackhall, J., Bellinzoni, R., Mattion, N., Estes, M.K., La Torre, J.L., and Magnusson, G. (1992). A bovine rotavirus serotype 1: serologic characterization of the virus and nucleotide sequence determination of the structural glycoprotein VP7 gene. *Virology*. 189(2):833-7.

Bohl, E.H., Kohler, E.M., Saif, L.J., Cross, R.F., Agnes, A.G., and Theil, K.W. (1978). Rotavirus as a cause of diarrhea in pigs. *J Am Vet Med Assoc.* 172(4): 458-63.

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.

Ciarlet, M. and Liprandi, F. (1994). Serological and genomic characterization of two porcine rotaviruses with serotype G1 specificity. *J Clin Microbiol.* 32(1):269-72.

Crawford, S.E., Patel, D.G., Cheng, E., Berkova, Z., Hyser, J.M., Ciarlet, M., Finegold, M.J., Conner, M.E., and Estes, M.K. (2006). Rotavirus viremia and extraintestinal viral infection in the neonatal rat model. *J Virol.* 80(10):4820-32.

Cukor, G. and Blacklow, N.R. (1984). Human viral gastroenteritis. *Microbiol Rev.* 48(2):157-179.

- Desselberger, U., Iturriza-Gómara, M., and Gray, J.J. (2001). Rotavirus epidemiology and surveillance. *Novartis Found Symp.* 238:125-47.
- 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.
- 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.
- Food and Drug Administration (FDA). (2008). FDA News: FDA Approves New Vaccine to Prevent Gastroenteritis Caused by Rotavirus.
- Gentsch, J.R., Glass, R.I., Woods, P., Gouvea, V., Gorziglia, M., Flores, J., Das, B.K., and Bhan, M.K. (1992). Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 30(6):1365-73.
- 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.
- Gentsch, J.R., Woods, P.A., Ramachandran, M., Das, B.K., Leite, J.P., Alfieri, A., Kumar, R., Bhan, M.K., and Glass, R.I. (1996). Review of G and P typing results from a global collection of rotavirus strains: implications for vaccine development. *J Infect Dis.* 174 Suppl 1:S30-6.
- Gerba, C.P. and Rose, J.B. (1990). Viruses in source and drinking water. In: *Drinking water microbiology: progress and recent developments.* G.A. McFeters (ed.). Springer-Verlag, New York.
- Gouvea, V., Glass, R.I., Woods, P., Taniguchi, K., Clark, H.F., Forrester, B., and Fang, Z.Y. (1990). Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *J Clin Microbiol.* 28(2):276-82.
- Gutierrez, M.R., Alvorada, M.V., Martine, E., and Agama, N.R. (2007). Presence of viral proteins in drinkable water-sufficient condition to consider water a vector of viral transmission? *Water Res.* 41(2):373-8.
- Health Canada. (2004). *Guidelines for Canadian Drinking Water Quality: Supporting Documentation- Enteric Viruses.* Water Quality and Health Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, Ottawa, Ontario.
- Hurst, C.J., Knudsen, G.R., McInerney, M.J., Stetzenbach, L.D., and Walter, M.V. (2001). *Manual of environmental microbiology.* American Society for Microbiology Press, Washington, DC.
- Jarplid, B. and Mejerland, T. (1998). Villous atrophy in the small intestine of mink kits with diarrhea. *Scientifur.* 22:157-160.
- Kramer, A., Schwebke, I., and Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 6:130.
- Mara, D.D., Sleigh, P.A., Blumenthal, U.J., and Carr, R.M. (2007). Health risks in wastewater irrigation: comparing estimates from quantitative microbial risk analyses and epidemiological studies. *J Water Health.* 5(1):39-50.

Moe, K. and Shirley, JA. (1982). The effects of relative humidity and temperature on the survival of human rotavirus in faeces. *Arch Virol.* 72(3): 179-86.

Payment, P. and Armon, R. (1989). Virus removal by drinking water treatment processes. *CRC Crit. Rev Environ Control.* 19: 15-31.

Payment, P., Siemiatycki, J., Richardson, L., Renaud, G., Franco, E., and Prévost, M. (1997). A prospective epidemiological study of gastrointestinal health effects due to the consumption of drinking water. *Int J Environ Health Res.* 7: 5-31.

Santos, N. and Hoshino, Y. (2005). Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine. *Rev Med Virol.* 15(1):29-56.

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.

Steyer, A., Poljsak-Prijatelj, M., Barlic-Maganja, D., and Marin, J. (2008). Human, porcine and bovine rotaviruses in Slovenia: evidence of interspecies transmission and genome reassortment. *J Gen Virol.* 89(Pt 7):1690-8.

Thouless, M.E., DiGiacomo, R.F., Deeb, B.J., and Howard, H. (1988). Pathogenicity of rotavirus in rabbits. *Clin Microbiol.* 26(5): 943-7.

Yason, C.V. and Schat, K.A. (1987). Pathogenesis of rotavirus infection in various age groups of chickens and turkeys: clinical signs and virology. *Am J Vet Res.* 48(6): 977-83.

World Health Organization (WHO). (2007). Rotavirus Vaccines: WHO Position Paper. *Weekly Epidemiological Record.* 82: 285-296.

Zibrik, L., Dove, W., McArdle, F., Rustom, R., Hart, C.A., Jackson, M.J. (2007) Lack of shedding of the RIX4414 live attenuated rotavirus vaccine administered to adult volunteers. *Arch Virol.* 152(10):1951-4.