



## Voorpublicatie ontwerp van de regeling tot wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie)

De Minister van Infrastructuur en Waterstaat maakt ingevolge artikel 1.9, eerste lid, van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013, bekend dat eenieder uiterlijk op de dag waarop vier weken zijn verstreken na de datum waarop deze voorpublicatie plaatsvindt schriftelijk zijn of haar zienswijze naar voren kan brengen over onderstaand ontwerp van een ministeriële regeling.

Uw zienswijze kunt u op de volgende manieren indienen:

1. bij voorkeur per e-mail naar:  
secretariaat.O&M@minienw.nl, met in de onderwerpregel de tekst 'reactie op de ontwerpregeling ggo', of
2. per brief naar het volgende adres:  
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat  
DGMI/Directie O&M/Taakveld veiligheid biotechnologie  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag  
onder vermelding van 'reactie op de ontwerpregeling ggo'

### Regeling van de Minister van Infrastructuur en Waterstaat van ... tot wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie)

De Minister van Infrastructuur en Waterstaat,

Gelet op de artikelen 2.2, eerste lid, 3.4, eerste lid, 3.24, eerste lid, en 3.25, derde lid, van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013;

BESLUIT:

#### ARTIKEL I

De Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 wordt als volgt gewijzigd:

A

Artikel 17 wordt als volgt gewijzigd:

1. In het eerste lid, onderdeel b, vervalt ', waarbij indien het inperkingsniveau II betreft, tevens wordt aangegeven of het niveau II-k of II-v betreft als bedoeld in artikel 2.7, derde lid, van het Besluit'.

2. De aanduiding '1' voor het eerste lid en het tweede lid vervallen.

B

Na artikel 39 worden twee artikelen ingevoegd, luidende:

#### Artikel 39a

Als categorie van genetisch gemodificeerde organismen als bedoeld in artikel 3.24, eerste lid, in samenhang met artikel 3.26a, van het Besluit, worden aangewezen genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties.

#### Artikel 39b

Als categorie van genetisch gemodificeerde organismen als bedoeld in artikel 3.24, eerste lid, in samenhang met artikel 3.26a, van het Besluit, worden aangewezen humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van muizen gamma-retrovirussen dan wel humaan immunodeficiëntievirus, waarbij geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus



en waarbij residuele infectieuze retrovirale of lentivirale partikels afwezig zijn.

C

Na artikel 40 worden twee artikelen ingevoegd, luidende:

**Artikel 40a**

Als over te leggen gegevens bij een aanvraag om een vergunning onder vaste voorschriften als bedoeld in artikel 3.25, derde lid, van het Besluit die betrekking heeft op de categorie van genetisch gemodificeerde organismen, aangewezen in artikel 39a, worden aangewezen:

- a. gegevens betreffende de aanvrager, waaronder de naam en het adres van de rechtspersoon;
- b. gegevens over de plaats(en) van uitvoering;
- c. de titel van de aanvraag;
- d. het doel van de aanvraag;
- e. een beschrijving van het productiesysteem van de in artikel 39a bedoelde virale vectoren;
- f. een beschrijving van de in artikel 39a bedoelde virale vectoren en de daarin aangebrachte modificaties;
- g. gegevens betreffende de moleculaire karakterisering van de in artikel 39a bedoelde virale vectoren;
- h. gegevens betreffende de mogelijkheid tot vorming van replicatiecompetent Adeno-associated dependoparvovirus;
- i. gegevens over de afwezigheid van infectieus helpervirus;
- j. een ingevuld deel B Summary Notification Information Format.

**Artikel 40b**

Als over te leggen gegevens bij een aanvraag om een vergunning onder vaste voorschriften als bedoeld in artikel 3.25, derde lid, van het Besluit die betrekking heeft op de categorie van genetisch gemodificeerde organismen, aangewezen in artikel 39b, worden aangewezen:

- a. gegevens betreffende de aanvrager, waaronder de naam en het adres van de rechtspersoon;
- b. gegevens over de plaats(en) van uitvoering;
- c. de titel van de aanvraag;
- d. het doel van de aanvraag;
- e. een beschrijving van het productiesysteem van de in artikel 39b aangewezen retrovirale vectoren dan wel lentivirale vectoren;
- f. een beschrijving van de in artikel 39b aangewezen retrovirale dan wel lentivirale vectoren en de daarin aangebrachte modificaties;
- g. gegevens betreffende de moleculaire karakterisering van de in artikel 39b aangewezen retrovirale dan wel lentivirale vectoren;
- h. gegevens betreffende het celproduct dat aan de proefpersoon wordt toegediend;
- i. gegevens over de afwezigheid van replicatiecompetent retrovirus dan wel replicatiecompetent lentivirus;
- j. gegevens over de afwezigheid van residuele infectieuze retrovirale dan wel lentivirale partikels in het celproduct dat aan de proefpersoon wordt toegediend;
- k. een ingevuld deel B Summary Notification Information Format.

D

Na artikel 41 worden in afdeling 3.2 twee artikelen ingevoegd, luidende:

**Artikel 41a**

Activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen aangewezen in artikel 39a, waarvoor met toepassing van de procedure, aangegeven in de artikelen 3.25 en 3.26a van het Besluit, een vergunning onder vaste voorschriften is verleend, worden, onverminderd het elders in deze regeling bepaalde en het bepaalde in de vergunning, uitgevoerd in overeenstemming met de voorschriften, vermeld in bijlage 10, deel B.

**Artikel 41b**

Activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen aangewezen in artikel 39b, waarvoor met toepassing van de procedure, aangegeven in de artikelen 3.25 en 3.26a van het Besluit, een vergunning onder vaste voorschriften is verleend, worden, onverminderd het elders in deze regeling bepaalde en het bepaalde in de vergunning, uitgevoerd in overeenstemming met de voorschriften, vermeld in bijlage 10, deel C.



E

In artikel 50, eerste lid, onderdeel b, wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II'.

F

Bijlage 5 wordt als volgt gewijzigd:

1. In de toelichting onder 'Inschaling van activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen' vervalt 'II-v,' en wordt 'II-k' telkens vervangen door 'II'.

2. De inhoudsopgave wordt als volgt gewijzigd:

a. In het opschrift van Deel II wordt 'II-k' vervangen door 'II'.

b. In het opschrift van 5.10 wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II'.

c. In het opschrift van 5.13 wordt 'II-k' vervangen door 'II'.

d. In het opschrift van 5.14 wordt 'DM-II-k' vervangen door 'DM-II'.

3. In de inschalingsartikelen 5.2, 5.3, 5.4.1 tot en met 5.4.4, wordt 'ML-II-k' telkens vervangen door 'ML-II'.

4. Inschalingsartikel 5.4.3 wordt als volgt gewijzigd:

a. In onderdeel b wordt bij klasse 2 'ML-II-v' vervangen door 'ML-II'.

b. In onderdeel c vervalt

**'klasse 2 en betreft Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3 of Enterovirus C Coxsackievirus type A1, A11, A13, A17, A19 tot en met A22, A24 en de donorsequentie is afkomstig van Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3 of Enterovirus C Coxsackievirus type A1, A11, A13, A17, A19 tot en met A22, A24 of betreft Poliovirus type 2 sequenties anders dan capsidesequenties: ML-II-v**

**klasse 2 en betreft humaan Parechovirus type 1, 2, 3, 4 of 5 en de donorsequentie is afkomstig van humaan Parechovirus type 1, 2, 3, 4 of 5: ML-II-v**

**klasse 2 en betreft een virus uit de familie Coronaviridae, Flaviviridae, Paramyxoviridae, of Togaviridae en de donorsequentie is afkomstig van een virus uit dezelfde familie als de virale vector:**

respectievelijk ML-III, ML-II-v, ML-II-v'

c. In onderdeel g wordt bij klasse 2 'ML-II-v' vervangen door 'ML-II'.

d. In onderdeel h vervalt

**'klasse 2 en betreft Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3 of Enterovirus C Coxsackievirus type A1, A11, A13, A17, A19 tot en met A22, A24 en de donorsequentie is afkomstig van Enterovirus C Poliovirus type 1 of 3 of Enterovirus C Coxsackievirus type A1, A11, A13, A17, A19 tot en met A22, A24 of betreft Poliovirus type 2 sequenties anders dan capsidesequenties: ML-II-v**

**klasse 2 en betreft humaan Parechovirus type 1, 2, 3, 4 of 5 en de donorsequentie is afkomstig van humaan Parechovirus type 1, 2, 3, 4 of 5: ML-II-v**

**klasse 2 en betreft een virus uit de familie Coronaviridae, Flaviviridae, Paramyxoviridae, of Togaviridae en de donorsequentie is afkomstig van een virus uit dezelfde familie als de virale vector:**

respectievelijk ML-III, ML-II-v, ML-II-v.'

5. Inschalingsartikel 5.4.4 wordt als volgt gewijzigd:

a. In onderdeel b vervalt ', ML-II-v' en wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II'.



- b. In onderdeel c vervalt ', DM-II-v' en wordt 'DM-II-k' vervangen door 'DM-II'.
- c. In onderdeel e vervalt ', ML-II-v' en wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II'.
- d. In onderdeel f wordt 'PCM-II-k/PKM-II-k' vervangen door 'PCM-II/PKM-II'.
6. In inschalingsartikel 5.5.3 wordt 'PCM-II-k/PKM-II-k' telkens vervangen door 'PCM-II/PKM-II'.
7. In inschalingsartikel 5.6.2, onderdeel b, wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II', wordt 'DM-II-k' vervangen door 'DM-II' en vervalt onderdeel c.
8. Inschalingsartikel 5.6.3 wordt als volgt gewijzigd:
- a. 'ML-II-k' wordt telkens vervangen door 'ML-II' en 'DM-II-k' wordt telkens vervangen door 'DM-II'.
- b. Onderdeel a komt te luiden:
- a. Zoogdieren in associatie met:
- een plasmide zonder schadelijke sequenties, of
  - getransfecteerde cellen afkomstig van hogere eukaryoten die volgens inschalingsartikel 5.4.1 zijn ingeschaald op ML-I

waarbij de in het zoogdier gebrachte virale sequenties niet kunnen leiden tot de vorming van al dan niet replicatiecompetente recombinante virussen.

**Inschaling: D-I**

Als aan a. niet wordt voldaan:

- c. Onderdeel d vervalt.
9. In het opschrift van Deel II wordt 'i' vervangen door I en wordt 'ii-k' vervangen door 'II'.
10. In het opschrift van 5.10 wordt 'ML-II-k' vervangen door 'ML-II'.
11. In de inschalingsartikelen 5.10.1 tot en met 5.10.4 wordt 'ML-II-k' telkens vervangen door 'ML-II'.
12. In het opschrift van 5.13 wordt 'II-k' vervangen door 'II'.
13. Inschalingsartikel 5.13.1 wordt als volgt gewijzigd:
- a. In het opschrift wordt 'PCM-II-k' vervangen door 'PCM-II' en wordt 'PKM-II-k' vervangen door 'PKM-II'.
- b. In onderdeel a wordt 'PCM-II-k' telkens vervangen door 'PCM-II' en wordt 'PKM-II-k' telkens vervangen door 'PKM-II'.
14. Inschalingsartikel 5.13.2 wordt als volgt gewijzigd:
- a. 'PCM-II-k' wordt telkens vervangen door 'PCM-II' en wordt 'PKM-II-k' telkens vervangen door 'PKM-II'.
- b. In onderdeel d wordt 'II-k' telkens vervangen door 'II'.
15. In het opschrift van 5.14 wordt 'DM-II-k' vervangen door 'DM-II'.
16. In de inschalingsartikelen 5.14.1 en 5.14.2 wordt 'DM-II-k' telkens vervangen door 'DM-II'.

**G**

Bijlage 7 wordt als volgt gewijzigd:

1. In de toelichting wordt 'II-k' telkens vervangen door 'II,' wordt 'PCM-II-k' vervangen door 'PCM-II' en wordt 'PKM-II-k' vervangen door 'PKM-II'.



2. In het opschrift van de tweede kolom van de tabel wordt 'PCM-II-k' vervangen door 'PCM-II' en wordt 'PKM-II-k' vervangen door 'PKM-II'.

H

Bijlage 10 wordt als volgt gewijzigd:

1. In het opschrift wordt 'bij artikel 41' vervangen door: bij de artikelen 41 tot en met 41b.

2. Na 'In deze bijlage wordt verstaan onder:' worden in de alfabetische volgorde de volgende definities toegevoegd:

*AAV*: Adeno-associated dependoparvovirus A of B;

*HIV*: humaan immunodeficiëntievirus;

3. Na artikel A:11 worden 2 delen toegevoegd, luidende:

### **Deel B**

Deel B van deze bijlage is ingevolge artikel 39a van deze regeling van toepassing op klinische studies met genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties, waarvoor een vergunning onder vaste voorschriften is verleend krachtens paragraaf 3.3.2 van het Besluit.

#### **Artikel B:1. Looptijd vergunning**

De vergunning vervalt na 10 jaar.

#### **Artikel B:2. Zeggenschap over de klinische studie**

De vergunninghouder verzekert zich tijdens de uitvoering van de werkzaamheden van de volledige zeggenschap over de werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen.

#### **Artikel B:3. Beschrijving van voorgenomen werkzaamheden**

De vergunninghouder zendt voor de aanvang van de werkzaamheden een beschrijving van de voorgenomen werkzaamheden aangetekend aan de Minister.

#### **Artikel B:4. Aanvang van de klinische studie**

De klinische studie vindt uitsluitend doorgang voor zover die is opgenomen in een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in artikel B:3 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel B:3 aan de Minister of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

#### **Artikel B:5. Voorkomen van vermenging en verspreiding**

1. De genetisch gemodificeerde AAV partikels zijn geproduceerd onder (*current*) *Good Manufacturing Practice*(GMP) dan wel onder de principes van (*current*) GMP.
2. Er is geen infectieus helpervirus aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.
3. Preparatie en toediening van de genetisch gemodificeerde AAV vector vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
4. Afnemen van monsters van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
5. Niet wegwerpbaar materiaal worden gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans, dan wel geautoclaveerd.
6. In geval van morsen worden besmette oppervlakken gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans.



### **Artikel B:6. Opslag**

1. De genetisch gemodificeerde AAV vector wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang.
2. Monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

### **Artikel B:7. Transport**

1. Intern transport van de genetisch gemodificeerde AAV vector vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking.
2. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.

### **Artikel B:8. Afvalverwerking**

1. Afval dat de genetisch gemodificeerde AAV vector bevat dan wel in aanraking is geweest met de genetisch gemodificeerde AAV vector gedurende preparatie en toediening, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.
2. Afval van monsters, van monsterafname en van verwerking van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

### **Artikel B:9. Rapportage**

De vergunninghouder zendt jaarlijks een verslag van verrichte werkzaamheden aan de Minister.

### **Artikel B:10. Controle, afwijkingen en incidenten**

1. Gedurende het uitvoeren van de werkzaamheden wordt regelmatig en doelmatig gecontroleerd op afwijkingen ten opzichte van de gegevens in de onderliggende aanvraag. Deze afwijkingen worden genoteerd in het logboek.
2. Afwijkingen die van invloed kunnen zijn op de risico's voor mens en milieu worden onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister gemeld.
3. Incidenten worden onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister gemeld.
4. De telefonische en schriftelijke melding van een afwijking of een incident, bedoeld in het tweede respectievelijk derde lid, wordt ingediend bij de Inspectie Leefomgeving en Transport.

## **Deel C**

Deel C van deze bijlage is ingevolge artikel 39b van deze regeling van toepassing op klinische studies met humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van muizen gamma-retrovirussen dan wel humaan immunodeficiëntievirus (HIV), waarbij er geen risico is op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze retrovirale of lentivirale partikels afwezig zijn, waarvoor een vergunning onder vaste voorschriften is verleend krachtens paragraaf 3.3.2 van het Besluit.

### **Artikel C:1. Looptijd vergunning**

De vergunning vervalt na 10 jaar.

### **Artikel C:2. Zeggenschap over de klinische studie**

De vergunninghouder verzekert zich tijdens de uitvoering van de werkzaamheden van de volledige zeggenschap over de werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen.

### **Artikel C:3. Beschrijving van voorgenomen werkzaamheden**

De vergunninghouder zendt voor de aanvang van de werkzaamheden een beschrijving van de



voorgenomen werkzaamheden aangetekend aan de Minister.

#### **Artikel C:4. Aanvang van de klinische studie**

De klinische studie vindt uitsluitend doorgang voor zover die is opgenomen in een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in artikel C:3 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel C:3 aan de Minister of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

#### **Artikel C:5. Voorkomen van vermenging en verspreiding**

1. De genetisch gemodificeerde retrovirale dan wel lentivirale partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen zijn geproduceerd onder (*current*) *Good Manufacturing Practice* (GMP) dan wel onder de principes van (*current*) GMP.
2. HIV positieve proefpersonen en HIV positieve donoren zijn uitgesloten van studies waarbij lentivirale vectoren worden toegepast.
3. De gebruikte productiecellen zijn vrij van HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, en andere relevante retrovirussen en lentivirussen die kunnen leiden tot complementatie dan wel recombinatie van de retrovirale dan wel lentivirale vector.
4. De LTR's in het virale vectorgenoom zijn zelf-inactiverend (SIN) voor studies waarbij lentivirale vectoren worden toegepast.
5. Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte retro- of lentivirale vector te complementeren,
6. Er is geen replicatiecompetent retrovirus dan wel replicatiecompetent lentivirus aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.
7. Er zijn geen residuele infectieuze retrovirale dan wel lentivirale partikels aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.
8. Preparatie en toediening van de genetisch gemodificeerde humane cellen vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
9. Afnemen van monsters van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
10. Monsters afkomstig van proefpersonen uit studies waarbij humane cellen getransduceerd met retrovirale vectoren worden toegepast, die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, worden niet in kweek gebracht.
11. Niet wegwerpbaar materialen worden gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans, dan wel geautoclaveerd.
12. In geval van morsen worden besmette oppervlakken gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans.

#### **Artikel C:6. Opslag**

1. De genetisch gemodificeerde humane cellen worden opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang.
2. Monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

#### **Artikel C:7. Transport**

1. Intern transport van de genetisch gemodificeerde humane cellen vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking.
2. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodifi-



ceerde humane cellen kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.

#### **Artikel C:8. Afvalverwerking**

1. Afval dat de genetisch gemodificeerde humane cellen bevat dan wel in aanraking is geweest met de genetisch gemodificeerde humane cellen gedurende preparatie en toediening, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.
2. Afval van monsters, van monsterafname en van verwerking van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

#### **Artikel C:9. Rapportage**

De vergunninghouder zendt jaarlijks een verslag van verrichte werkzaamheden aan de Minister.

#### **Artikel C:10. Controle, afwijkingen en incidenten**

1. Gedurende het uitvoeren van de werkzaamheden wordt regelmatig en doelmatig gecontroleerd op afwijkingen ten opzichte van de gegevens in de onderliggende aanvraag. Deze afwijkingen worden genoteerd in het logboek.
2. Afwijkingen die van invloed kunnen zijn op de risico's voor mens en milieu worden onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister gemeld.
3. Incidenten worden onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister gemeld.
4. De telefonische en schriftelijke melding van een afwijking of een incident, bedoeld in het tweede respectievelijk derde lid, wordt ingediend bij de Inspectie Leefomgeving en Transport.

### **ARTIKEL II**

Deze regeling treedt in werking met ingang van het tijdstip waarop het Besluit van ... tot wijziging van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie) in werking treedt. Indien de Staatscourant waarin deze regeling wordt geplaatst, wordt uitgegeven op of na de datum van inwerkingtreding van dat besluit, treedt deze regeling in werking op de dag na de datum van uitgifte van de Staatscourant waarin zij wordt geplaatst en werkt terug tot en met het tijdstip waarop het genoemde besluit in werking is getreden.

Deze regeling wordt met de toelichting in de Staatscourant geplaatst.

*De Minister van Infrastructuur en Waterstaat,  
C. van Nieuwenhuizen Wijbenga*





## TOELICHTING

### Algemeen

#### 1. Inleiding

In navolging van het vervallen van het onderscheid tussen de vergunning- en de kennisgevingsprocedure van inperkingsniveau II (II-v en II-k) in het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (hierna: Besluit ggo) zoals gewijzigd bij besluit van ..., (hierna: wijzigingsbesluit) vervalt dit onderscheid ook in de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (hierna: Regeling ggo). De onderhavige regeling (hierna: wijzigingsregeling) voorziet daarin. Daarnaast voorziet deze wijzigingsregeling erin dat gebruik wordt gemaakt van de extra procedure voor gentherapie die in het wijzigingsbesluit is opgenomen, door het aanwijzen van twee genetisch gemodificeerde organismen (hierna: ggo's) waarvoor een vergunning onder vaste voorschriften kan worden aangevraagd.

De onderhavige wijziging is geen aanpassing van de implementatie van twee Europese richtlijnen (richtlijnen 2001/18 en 2009/41)<sup>1</sup> in de Regeling ggo. De wijzigingen zijn geheel technisch van aard en doen geen afbreuk aan het veilig werken met ggo's.

#### 2. Hoofdpijnen van het voorstel

##### 2.1 Aanleiding

Bedrijven en instellingen die handelingen met ggo's verrichten en daarom onder de werking van het Besluit ggo en de Regeling ggo vallen - en daarin aangeduid worden als 'gebruiker' - volgen de uitvoering van het Besluit ggo en de Regeling ggo kritisch en doen geregeld voorstellen voor aanpassing en verbetering. Deze 'gebruikers'<sup>2</sup> en de koepelorganisaties<sup>3</sup> die hen vertegenwoordigen hebben twee uitvoeringsproblemen naar voren gebracht, waarvoor verdere verbetering wenselijk en mogelijk is, maar waarvoor wijziging van de regelgeving noodzakelijk is. Met het wijzigingsbesluit wordt daarom het volgende geregeld: het vervallen van het onderscheid tussen de inperkingsniveaus II-k en II-v alsmede het verminderen van de procedurelast voor gentherapie. De wijzigingsregeling bevat een uitwerking daarvan.

##### 2.2 De huidige praktijk

###### a. Onderscheid II-k en II-v

In de praktijk is gebleken dat de gebruikers grote moeite hebben om te bepalen wanneer een II-k of II-v procedure gevolgd moet worden. In eerste instantie is aan deze problemen tegemoet gekomen door een verduidelijking aan te brengen van de criteria die tot een inschaling op II-v moet leiden. Dit is geschied door een aanpassing van de Regeling ggo met ingang van 1 januari 2017<sup>4</sup>.

###### b. procedurelast gentherapie

De huidige procedure voor het verlenen van vergunningen voor doelbewuste introductie in het milieu (waaronder gentherapie) is gebaseerd op de uniforme openbare voorbereidingsprocedure (UOV) van afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht (Awb). De procedure bestaat uit een milieurisicobeoordeling (hierna: MRB) van de aangevraagde activiteiten met ggo's en publieke consultatie van de ontwerpbeschikking. De procedure wordt toegepast voor gemodificeerde gewassen en bij gentherapie. Het Besluit ggo houdt rekening met de maximale termijnen die ten behoeve van een Europese consultatieronde in richtlijn 2001/18 zijn opgenomen.

<sup>1</sup> Richtlijn 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van richtlijn 90/220/EEG van de Raad (Pb EG 106) en Richtlijn 2009/41/EG van het Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie van 6 mei 2009 inzake het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde micro-organismen (PbEU L 125)

<sup>2</sup> Voorbeelden zijn: Universitair medische centra, grote farmaceutische bedrijven, startups op dat gebied

<sup>3</sup> Voorbeelden zijn: HollandBio, Nederlandse Vereniging voor Gen- en Celtherapie, Nederlandse Federatie van Universitair Medische Centra

<sup>4</sup> Staatscourant 2016, nr. 67577. Regeling van de Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu van 12 december 2016, nr. IENM/BSK-2016/190489 tot wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (aanpassing bijlagen 5 en 9)



## 2.3 Ontwikkelingen in de praktijk

### a. Onderscheid II-k en II-v

De verduidelijking van de criteria die tot een inschaling op II-v moeten leiden door aanpassing van de Regeling ggo heeft weliswaar een verbetering voor de gebruikers gebracht - met een reductie van het aantal inschalingen op II-v - maar zij bleven in de praktijk moeite houden met het onderscheid tussen II-k en II-v en het maken van de juiste keuze; II-k of II-v.

### b. Verminderen procedurelast gentherapie

De afgelopen jaren is met toepassing van gentherapie veel ervaring en kennis opgedaan, met name als het gaat om de veiligheid van bepaalde, al vaak toegepaste 'platforms' waarmee de feitelijke therapeutica worden gemaakt. Deze platforms bestaan uit ongevaarlijk gemaakte Adeno-associated dependoparvovirus A of B (hierna: AAV) virussen en buiten het lichaam gemodificeerde menselijke cellen.

## 2.4 Advisering COGEM

De COGEM-adviezen die voor het wijzigingsbesluit zijn gebruikt, werken ook door in deze wijzigingsregeling. Zie daarom verder paragraaf 2.4 van de nota van toelichting bij het wijzigingsbesluit.

Mede op grond van de hiervoor genoemde COGEM-adviezen zal het gebruik van zowel AAV-vectoren als *ex-vivo* getransduceerde humane cellen in klinische studies toegestaan worden via een vergunning onder vaste voorwaarden zoals bedoeld in paragraaf 3.3.2 van het Besluit ggo.

## 2.5 Wijziging van de Regeling ggo

### a. Onderscheid II-k en II-v

In navolging van de wijziging van het Besluit ggo vervalt ook in de Regeling ggo het onderscheid tussen II-k en II-v en resteert voor inperkingsniveau II de kennisgevingsprocedure. Als gevolg daarvan vervallen in een tweetal artikelen en in bijlagen 5 en 7 de inschalingen van II-v en worden de inschalingen op II-k gewijzigd in inschalingen op niveau II. Het betreft niet alleen algemene verwijzingen naar II-k en II-v, maar ook verwijzingen naar en inschalingen op de niveaus ML-II-v, ML-II-k, DM-II-v, DM-II-k, PCM-II-k en PKM-II-k. Zie verder de artikelsgewijze toelichting.

### b. Verminderen procedurelast gentherapie

In het wijzigingsbesluit wordt een bijzondere procedure voor gentherapie ingevoegd in het Besluit ggo voor een vergunning onder vaste voorschriften (hierna: VOV) met een beslistermijn van 56 dagen.

Het gewijzigde Besluit ggo biedt de mogelijkheid om ggo's aan te wijzen waarvoor een VOV kan worden verleend met een beslistermijn van maximaal 56 dagen (artikel 3.26a in verbinding met artikel 3.24 Besluit ggo). Van die mogelijkheid wordt in deze wijzigingsregeling als volgt gebruik gemaakt. Via de toevoeging van de artikelen 39a, 40a en 41a, alsmede het invoegen van deel B in bijlage 10 bij de Regeling ggo wordt het werken met genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van AAV onder vaste voorschriften mogelijk gemaakt.

Via de toevoeging van de artikelen 39b, 40b en 41b, alsmede het invoegen van deel C in bijlage 10 bij de Regeling ggo wordt het werken met humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van muizen gamma-retrovirussen dan wel het humaan immunodeficiëntievirus (HIV) onder vaste voorschriften mogelijk gemaakt.

Beide aanwijzingen zijn gebaseerd op de gestandaardiseerde MRB's die in Europees verband zijn vastgesteld en door Nederland zijn onderschreven. Deze gestandaardiseerde MRB's zijn de weerslag van de vele eerdere vergunningen die voor deze toepassingen zijn verleend en de positieve ervaringen ermee.

Voor het gebruik van de MRB's in de genoemde VOV's is het van belang dat de MRB's algemeen bekend zijn gemaakt, hetgeen geschiedt door de in het Nederlands vertaalde versies van beide MRB's op te nemen als bijlagen bij deze toelichting. Inspraak op deze wijzigingsregeling omvat derhalve ook inspraak op de beide MRB's.

## 3. Gevolgen en Consultatie

Voor een toelichting op de gevolgen wordt verwezen naar hoofdstuk 3 van het algemeen deel van de nota van toelichting bij het wijzigingsbesluit. Daarin zijn ook de gevolgen van deze wijzigingsregeling



meegenomen en wordt vastgesteld dat de totale vermindering van administratieve lasten als gevolg van die wijzigingen bedraagt € 53.355,- per jaar.

Daarnaast is er een jaarlijkse vermindering van 1760 wachtdagen (dagen waarop men moet wachten op een beslissing).

Daarnaast is in hoofdstuk 4 van het algemeen deel van de nota van toelichting bij het wijzigingsbesluit gemeld dat het Adviescollege Toetsing Regeldruk en de Inspectie Leefomgeving en Transport zijn geraadpleegd en is beargumenteerd waarom MKB-toets niet is uitgevoerd. Die passage geldt ook voor deze regeling; een aparte toets door ATR en ILT heeft geen toegevoegde waarde.

#### **4. Voorpublicatie**

Het ontwerp van deze wijzigingsregeling is conform artikel 1.9, eerste lid, van het Besluit ggo, op ... in de Staatscourant bekendgemaakt met het oog op inspraak. Er zijn ... reacties ontvangen. Vanwege deze bekendmaking met het oog op inspraak is afgezien van internetconsultatie.

#### **5. Inwerkingtreding**

De wijzigingsregeling treedt in werking op het tijdstip waarop het Besluit van ... tot wijziging van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie) in werking treedt.

### **Artikelsgewijze toelichting**

#### **Artikel I**

##### *Onderdeel A*

Door het laten vervallen van het onderscheid tussen II-k en II-v in het Besluit ggo, vervalt dat onderscheid ook in de Regeling ggo.

##### *Onderdelen B, C en D*

De in deze onderdelen toegevoegde artikelen vormen de aanwijzing van de ggo's waarvoor een VOV met een proceduretermijn van 56 dagen, als bedoeld in artikel 3.24, eerste lid, in samenhang met artikel 3.26a van het Besluit ggo, kan worden aangevraagd. Daarbij bevatten de artikelen 39a en 39b de aanwijzing, de artikelen 40a en 40b de indieningsvereisten voor een aanvraag voor een VOV en worden in de artikelen 41a en 41b de vaste voorschriften van bijlage 10 van toepassing verklaard. Deze structuur sluit aan bij de al bestaande aanwijzing van genetisch gemodificeerde aardappelzetmeelrassen met een amylosevrij fenotype en is zo opgebouwd dat toekomstige aanwijzingen eenvoudig kunnen toegevoegd.

De artikelen 39a, 40a, en 41a hebben betrekking op de op AAV gebaseerde virale vectoren en de artikel 39b, 40b en 41b gelden voor humane cellen die *ex vivo* met lentivirale of retrovirale vectoren zijn getransduceerd.

Onderdelen E en F, onder 1, 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 en 16

Hiermee worden op verschillende plaatsen in de Regeling ggo de noodzakelijke wijzigingen doorgevoerd die verband houden met het vervallen van het onderscheid tussen II-k en II-v.

##### *Onderdeel F, onder 4*

Met ingang van 1 januari 2017<sup>5</sup> is het inschalingsartikel 5.4.3. gewijzigd om het onderscheid tussen II-k en II-v alleen voor activiteiten met specifiek benoemde ggo's te laten voortbestaan. Door het onderscheid nu geheel te schrappen, kan de eerder aangebrachte wijziging grotendeels ongedaan worden gemaakt.

##### *Onderdeel F, onder 8, onder b*

Deze wijziging houdt geen verband met het vervallen van het onderscheid II-k en II-v. Omdat inschalingsartikel 5.6.3, vanwege het vervallen van het onderscheid II-k en II-v gewijzigd wordt, wordt de formulering van 5.6.3, onderdeel a, tegelijkertijd aangepast om onnodige verzoeken op grond van artikel 2.8 Besluit ggo te voorkomen. Door de aanpassing van de formulering van 5.6.3, onderdeel a,

<sup>5</sup> Zie voetnoot 4



---

wordt het mogelijk zoogdieren in associatie met een plasmide dan wel getransfecteerde cellen waarin beperkt virale sequenties aanwezig zijn, in te schalen op inperkingsniveau D-I. Eerder waren virale sequenties in plasmiden en getransfecteerde cellen uitgesloten van dit inschalingsartikel en konden deze activiteiten alleen via een verzoek op grond van artikel 2.8 Besluit ggo aangevraagd worden op D-I inperkingsniveau. Doordat de vorming van al dan niet replicatiecompetente recombinante virussen door de in het zoogdier gebrachte virale sequenties is uitgesloten, blijft de veiligheid geborgd.

#### *Onderdeel G*

Ook in bijlage 7 zijn enkele aanpassingen doorgevoerd die verband houden met het vervallen van het onderscheid II-k en II-v.

#### *Onderdeel H*

Zoals reeds is uiteengezet in de toelichting op de onderdelen B, C en D, zijn in bijlage 10 bij de Regeling ggo de vaste voorschriften voor de VOV's opgenomen. In onderdeel H worden deze vaste voorschriften voor de op AAV gebaseerde virale vectoren opgenomen alsmede voor humane cellen die ex vivo met lentivirale of retrovirale vectoren zijn getransduceerd; respectievelijk in deel B en deel C.

#### **Artikel II**

Deze wijzigingsregeling treedt in werking op hetzelfde tijdstip als waarop het Besluit vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie in werking treedt, zodat de wijzigingen van het Besluit ggo en de Regeling ggo gelijktijdig van kracht zullen zijn.

*De Minister van Infrastructuur en Waterstaat,  
C. van Nieuwenhuizen Wijbenga*



## BIJLAGE 1 BIJ DE TOELICHTING VAN DE REGELING TOT WIJZIGING VAN DE REGELING GGO

Gestandaardiseerde milieurisicobeoordeling voor genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties.

### 1. KENMERKEN VAN DE GEBRUIKTE GGO'S EN HUN INTRODUCTIE

#### 1.1 Het uitgangsgenoom

De virale vector is afgeleid van *Adeno-associated dependoparvovirus A* dan wel *Adeno-associated dependoparvovirus B* (AAV). AAV behoort tot de familie *Parvoviridae*, genus *Dependoparvovirus*, en is een enkelstrengs DNA virus zonder envelop. AAV is afhankelijk van een helpervirus voor replicatie. Van onder andere adenovirus en herpes simplex virus is bekend dat zij voor AAV als helpervirus kunnen optreden. Het wildtype AAV bezit een tweetal genen, *rep* en *cap*, die verantwoordelijk zijn voor de replicatie en voor de vorming van het manteleiwit van het virus. Daarnaast zijn de door het *rep* gen gecodeerde eiwitten betrokken bij de gerichte integratie van het virusgenoom in het genoom van de gastheer. De *rep* en *cap* genen worden geflankeerd door twee *Inverted Terminal Repeats* (ITR's). De ITR's zijn regulatoire sequenties die nodig zijn voor het inpakken van het genetisch materiaal in de virusmantel, hebben een functie bij de replicatie van AAV en zijn betrokken bij de integratie van het virale DNA in het genoom van de gastheer. Het helpervirus zorgt ervoor dat de geïnfecteerde cel in een zodanige fysiologische staat wordt gebracht dat vermenigvuldiging van AAV mogelijk wordt. Bij afwezigheid van een helpervirus zal AAV een latente infectie veroorzaken, waarbij het virale genoom voornamelijk episomaal in de cel aanwezig is. Het virale genoom kan echter ook integreren in het gastheergenoom.

De meest waarschijnlijke infectieroutes van AAV verlopen via de luchtwegen en via de fecaal-orale route. De primaire route van overdracht is via contact met slijmvliezen. AAV kenmerkt zich door een hoge stabiliteit buiten de gastheer. AAV's kunnen bijna alle gewervelde dieren, inclusief de mens, infecteren. Infecties met AAV komen bij mensen veelvuldig voor. Ruim 90% van de volwassen mensen is seropositief voor AAV. Infecties met AAV worden niet in verband gebracht met een ziektebeeld. Er zijn verschillende serotypen van AAV bekend die onder andere verschillen in gastheerspecificiteit en weefsel tropisme.

#### 1.2 De modificatie

AAV *rep* en *cap* zijn vervangen door een expressiecassette. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties.

#### 1.3 Het ggo

##### *Constructie van de virale vector*

De gebruikte virale vector is gebaseerd op AAV en kan zich door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen niet vermenigvuldigen. De ITR's zijn de enige AAV sequenties die nog aanwezig zijn in de virale vector. Tussen deze twee ITR's is de expressiecassette opgenomen.

##### *Virulentie en stabiliteit van het ggo*

De virale vector is replicatiedeficiënt, dat wil zeggen dat de virale vector niet in staat is zich zelfstandig te vermeerderen door het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Een virusdeeltje kan een cel slechts éénmaal infecteren. Door het replicatiedeficiënte karakter is de vector verminderd persistent in vergelijking tot het wildtype AAV. Het is de verwachting dat het ggo, evenals wildtype AAV, een hoge stabiliteit heeft buiten de gastheer.

#### 1.4 Werkzaamheden

##### *Productie*

De productie van de genetisch gemodificeerde AAV partikels maakt geen onderdeel uit van de aanvraag. De genetisch gemodificeerde AAV partikels zijn geproduceerd onder (*current*) *Good Manufacturing Practice* (GMP) dan wel onder de principes van (*current*) GMP. Het productieproces is van dusdanige aard dat er geen infectieus helpervirus aanwezig is in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.



### *Transport*

Intern transport van de genetisch gemodificeerde AAV vector vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.

### *Opslag*

De genetisch gemodificeerde AAV vector wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang. Monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

### *Preparatie en toediening*

Preparatie en toediening van de genetisch gemodificeerde AAV vector vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

### *Monsterafname en verwerking*

Afnemen van monsters van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

### *Afvalverwerking en besmet materiaal*

Afval dat de genetisch gemodificeerde AAV vector bevat dan wel in aanraking is geweest met de genetisch gemodificeerde AAV vector gedurende preparatie en toediening, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat. Afval van monsters, van monsterafname en van verwerking van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde AAV vector kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

Niet wegwerpbaar materiaal wordt gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans, dan wel geautoclaveerd. In geval van morsen worden besmette oppervlakken gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans.

## **1.5 Interactie met het milieu**

De virale vector is replicatiedeficiënt en een virusdeeltje kan een cel slechts éénmaal infecteren. Verspreiding in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden tijdens de toediening en kort nadat het ggo aan de proefpersoon is toegediend. Hierdoor kunnen derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld worden aan het ggo en kan een infectie van derden en niet-doelwitorganismen niet worden uitgesloten. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal echter vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Aangezien het beoogde ggo niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

## **2. MILIEURISICOBEOORDELING**

De milieurisicobeoordeling is een technisch-wetenschappelijk werkproces waarbij de mogelijke risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu die verbonden zijn aan de werkzaamheden inzichtelijk worden gemaakt.

### **2.1 Algemeen**

In de milieurisicobeoordeling wordt beoordeeld of en hoe derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld kunnen worden aan het ggo, en of vervolgens infectie van derden en niet-doelwitorganismen met het ggo op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het ggo.



## 2.2 Het ggo

### *De AAV partikels*

Het ggo bestaat uit genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van AAV zonder schadelijke sequenties.

### **2.3 Mogelijke schadelijke effecten van het ggo en de evaluatie van de mogelijke gevolgen van deze effecten**

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan de persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van de virale vector*

In de virale vector zijn de *rep* en *cap* genen verwijderd die essentieel zijn voor replicatie van het virus. Deze deleties leiden niet tot een schadelijk effect zoals een verhoogde persistentie of invasiviteit. Integendeel, ze leiden tot een verlaagde persistentie en invasiviteit aangezien de virale vector vanwege deze deleties replicatiedeficiënt is.

Schadelijke effecten worden niet verwacht, aangezien AAV niet pathogeen is en de expressiecassette geen schadelijke sequenties bevat. Onbedoelde blootstelling van derden en niet-doelwitorganismen aan het ggo kan resulteren in inductie van een immuunrespons tegen de AAV capsid eiwitten. Deze afweerreactie tegen de AAV capsid eiwitten zal asymptomatisch zijn, op dezelfde manier als dat een natuurlijk voorkomende infectie met AAV een asymptomatische afweerreactie induceert.

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan recombinatie met of complementatie van virale sequenties in het vectorgenoom*

De virale vector kan in theorie recombineren indien wildtype AAV en een helpervirus in dezelfde cel aanwezig zijn als de vector. Recombinatie kan een hybride sequentie met van AAV afkomstige *rep* en *cap* sequenties en de expressiecassette opleveren. De maximale packagingcapaciteit van AAV capsiden is ongeveer 5.2 kilobasen (kb) en de *rep*, *cap* en ITR sequenties zijn al ongeveer 4.7 kb. Toevoeging van de expressiecassette zal de maximale packagingcapaciteit van AAV in de praktijk overtreffen waardoor deze hybriden niet kunnen worden ingepakt in AAV capsiden.

Daarnaast kan recombinatie tussen de vector en wildtype AAV resulteren in uitwisseling van homologe sequenties (i.e. de ITRs). Hierdoor kunnen de *rep* en *cap* genen van het wildtype AAV uitgewisseld worden met de expressiecassette van het ggo. De ontstane virusdeeltjes bevatten de expressiecassette, maar zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn. Anderzijds kunnen er virusdeeltjes ontstaan die de *rep* en *cap* genen bevatten, maar waarbij de expressiecassette afwezig is.

De verloren functies van de virale vector kunnen in theorie gecompenseerd worden indien wildtype AAV en een helpervirus in dezelfde cel aanwezig zijn als de vector. De expressie-producten van het wildtype virus kunnen in dat geval gebruikt worden door de vector, wat de replicatiedeficiënte vector de mogelijkheid biedt te repliceren en andere cellen te infecteren. De hierbij gevormde deeltjes zijn identiek aan het ggo.

Aan het ontstaan van nieuwe virusdeeltjes als gevolg van complementatie of recombinatie van het ggo met wildtype AAV zijn geen gevolgen verbonden, omdat de erbij ontstane virussen qua eigenschappen identiek zijn aan het ggo dan wel wildtype AAV.

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan niet-vector gerelateerde sequenties in de virale partikels*

Tijdens de productie van het ggo kunnen gastheercelsequenties van de productiecellen en productiesysteem gerelateerde sequenties terechtkomen in al dan niet infectieuze AAV partikels. Mogelijke schadelijke effecten die dien ten gevolge zouden kunnen optreden zullen afhankelijk zijn van de eigenschappen van de gevormde deeltjes.

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan insertionele mutagenese*

Na transductie van de cel kan de virale vector in het gastheergenoem integreren. Hierdoor bestaat de kans op ontregeling van genen betrokken bij proliferatie waardoor tumoren kunnen ontstaan.

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan kiembaantransmissie*

Na transductie van een kiembaancel kan de virale vector in het gastheergenoem integreren. Mogelijke



schadelijke effecten die dien ten gevolge zouden kunnen optreden zullen afhankelijk zijn van het virale vectorgenoom en de plaats van integratie in het gastheergenoom.

## **2.4 Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect**

*Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van de virale vector zullen optreden*

Verspreiding in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden tijdens de toediening en kort nadat het ggo aan de proefpersoon is toegediend. Hierdoor kunnen derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld worden aan het ggo en kan een infectie van derden en niet-doelwitorganismen niet worden uitgesloten. Aangezien het beoogde ggo niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten verkleind ten opzichte van de situatie in de proefpersoon.

Bovendien zal na toediening het ggo slechts gedurende beperkte tijd in het milieu terecht kunnen komen door uitscheiding. In klinische studies met AAV vectoren is vector DNA gedetecteerd in onder andere urine, feces en speeksel gedurende enkele weken tot maanden na toediening van de AAV vector aan de proefpersoon. Het aanwezig zijn van AAV DNA sequenties hoeft niet te betekenen dat ook daadwerkelijk infectieuze partikels aanwezig zijn. Preklinische studies met recombinant AAV laten zien dat urine geen infectieuze AAV partikels bevat en dat infectieuze vectordeeltjes beperkt zijn tot het plasma en verwijderd zijn uit de circulatie binnen 48 tot 72 uur na toediening aan de proefpersoon.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid van het optreden van mogelijke schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van de virale vector klein is.

*Waarschijnlijkheid van de kans op mobilisatie van of recombinatie met de virale vector met andere virussen*

Het is onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde cellen complementatie optreedt van de AAV vector dan wel dat er recombinatie optreedt tussen de AAV vector en wildtype AAV dat mogelijk in de cellen aanwezig kan zijn, aangezien hiervoor het ggo én wildtype AAV én een helpervirus tegelijkertijd in dezelfde cel aanwezig dienen te zijn, hetgeen zeer onwaarschijnlijk is. Bovendien zal de recombinante dan wel gecomplementeerde AAV vector, indien gevormd, nog steeds afhankelijk zijn van een helpervirus. Indien het helpervirus niet meer in dezelfde cel aanwezig is, zal de replicatie en eventuele verspreiding van de AAV vector uitdoven.

De kans dat er recombinatie dan wel complementatie optreedt in de proefpersoon dan wel in derden of niet-doelwitorganismen is op grond van de bovenstaande overwegingen zeer klein.

*Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan niet-vector gerelateerde sequenties in de virale partikels zullen optreden*

Ook voor de aanwezigheid van AAV partikels met niet-vector gerelateerde sequenties geldt dat deze slechts een beperkte tijd in de proefpersoon aanwezig blijven en tijdelijk kunnen worden uitgescheiden in het milieu. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten verkleind ten opzichte van de situatie in de proefpersoon. Daarnaast zijn deze partikels hoogstwaarschijnlijk replicatiedeficiënt, aangezien de packagingcapaciteit van AAV beperkt is en het onwaarschijnlijk is dat door recombinatie een AAV wordt gevormd dat *rep*, *cap* én een additionele, functionele sequentie bevat. In het geval dat een eventuele infectie van derden of niet-doelwitorganismen optreedt, zal dit een uitdovend effect zijn. Bovendien is gebleken dat niet-vector gerelateerde sequenties niet tot expressie komen.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan niet-vector gerelateerde sequenties in de virale partikels zullen optreden verwaarloosbaar klein is.

*Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan insertionele mutagenese zullen optreden*

Bij afwezigheid van een helpervirus zal AAV een latente infectie veroorzaken, waarbij het virale genoom voornamelijk episomaal in de cel aanwezig is. Het virale genoom kan echter ook integreren in het gastheergenoom. Gerichte integratie van AAV in het genoom van de gastheer is afhankelijk van de aanwezigheid van de Rep eiwitten. In afwezigheid van deze eiwitten is integratie voornamelijk willekeurig. Daarnaast is er, voor zover bekend, tot op heden geen tumorvorming waargenomen in





klinische studies die zijn uitgevoerd met recombinante AAV vectoren.

Blootstelling van derden en niet-doelwitorganismen aan het ggo gevolgd door een eventuele infectie kan niet worden uitgesloten. Echter, de hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten verkleind ten opzichte van de situatie in de proefpersoon. Aangezien het beoogde ggo niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid van het optreden van schadelijke effecten gerelateerd aan insertionele mutagenese verwaarloosbaar klein is.

*Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan kiembaantransmissie zullen optreden*

Op AAV gebaseerd vector DNA kan enkele weken tot maanden na toediening van de AAV vector in sperma aangetoond worden. Dit is een tijdelijk fenomeen. Het vectorgenoom is aanwezig in de vloeistof en niet in de spermacellen. Daarnaast integreren op AAV gebaseerde vectoren niet efficiënt in het celgenoom, maar zijn voornamelijk episodisch aanwezig, waardoor deze niet persistent zijn in actief replicerende cellen. Tevens is het optreden van kiembaantransmissie van op AAV gebaseerde virale vectoren niet aangetoond in preklinische studies of in de literatuur beschreven.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid dat kiembaantransmissie optreedt verwaarloosbaar klein is.

### **2.5 Schatting van het algehele risico van het ggo**

Het algehele milieurisico van de toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein.

### **2.6 Maatregelen voor risicobeheer**

Er zijn vanuit milieurisico oogpunt geen maatregelen voor risicobeheer noodzakelijk.

## **3. CONCLUSIES VAN MOGELIJKE MILIEUEFFECTEN VAN DE INTRODUCTIE**

In bijlage II, onder D1, van de Richtlijn 2001/18 wordt een aantal punten opgesomd die, waar passend, dienen als basis voor de conclusies over de mogelijke milieueffecten van de voorgenomen introductie van de ggo's in het milieu. Voor de volledigheid van de risicobeoordeling worden al deze punten hieronder opgesomd met hun bijbehorende conclusies.

### **3.1 Waarschijnlijkheid dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie**

In de genetisch gemodificeerde AAV vector zijn de *rep* en *cap* genen verwijderd waardoor de vector replicatiedeficiënt is. AAV infecties komen veelvuldig voor, over de hele wereld, zonder dat daarmee enig ziektebeeld in verband wordt gebracht. Door de deleties van de *rep* en *cap* genen is de vector verminderd persistent en invasief ten opzichte van wildtype AAV. Complementatie van de afwezige virale functies is alleen mogelijk als een cel het ggo bevat en tegelijkertijd ook geïnfecteerd is met wildtype AAV én een helpervirus. De mogelijk ontstane virusdeeltjes bij complementatie zijn qua eigenschappen identiek aan het ggo en zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn. Derhalve is de kans verwaarloosbaar klein dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie.

### **3.2 Selectieve voordelen of nadelen die op het ggo worden overgedragen en de waarschijnlijkheid dat zulks geschiedt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie(s)**

Door de deleties van de *rep* en *cap* genen is de genetisch gemodificeerde AAV vector replicatiedeficiënt. Hierdoor heeft de vector geen selectieve voordelen ten opzichte van wildtype AAV. Infecties met AAV worden niet in verband gebracht met een ziektebeeld. Complementatie van de afwezige virale functies is alleen mogelijk als een cel het ggo bevat en tegelijkertijd ook geïnfecteerd is met wildtype AAV én een helpervirus. De mogelijk ontstane virusdeeltjes bij complementatie zijn qua eigenschappen identiek aan het ggo en zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn. Derhalve zijn de risico's van selectieve voordelen of nadelen die op het ggo zijn overgedragen verwaarloosbaar klein.



### **3.3 Kans op genoverdracht op andere soorten onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie van het ggo en selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten worden overgedragen**

Het is onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde cellen complementatie optreedt van de AAV vector dan wel dat er recombinatie optreedt tussen de AAV vector en wildtype AAV dat mogelijk in de cellen aanwezig kan zijn, aangezien hiervoor het ggo én wildtype AAV én een helpervirus tegelijkertijd in dezelfde cel aanwezig dienen te zijn, hetgeen zeer onwaarschijnlijk is. Bovendien zal de recombinante dan wel gecomplementeerde AAV vector, indien gevormd, nog steeds afhankelijk zijn van een helpervirus. Indien het helpervirus niet meer in dezelfde cel aanwezig is, zal de replicatie en eventuele verspreiding van de AAV vector uitdoven.

Aan het ontstaan van nieuwe virusdeeltjes als gevolg van complementatie of recombinatie van het ggo met wildtype AAV zijn geen gevolgen verbonden, omdat de erbij ontstane virussen qua eigenschappen identiek zijn aan het ggo dan wel wildtype AAV. Derhalve is het risico van genoverdracht op andere soorten en selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten worden overgedragen verwaarloosbaar klein.

### **3.4 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en doelwitorganismen (indien van toepassing)**

Het doelwitorganisme van een klinische studie is de proefpersoon. Proefpersonen vallen buiten het beoordelingskader van de Richtlijn 2001/18. De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de proefpersonen en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO) en worden door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

### **3.5 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en niet-doelwitorganismen, inclusief de effecten op de populatie van concurrenten, prooien, gastheren, symbionten, predatoren, parasieten en ziekteverwekkers**

In de genetisch gemodificeerde AAV vector zijn de *rep* en *cap* genen verwijderd waardoor de vector replicatiedeficiënt is. AAV infecties komen veelvuldig voor, over de hele wereld, zonder dat daarmee enig ziektebeeld in verband wordt gebracht. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties. Aangezien de virale vector replicatiedeficiënt is, zal de virale vector slechts tijdelijk vanuit de proefpersoon in het milieu terecht kunnen komen. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal echter vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. De kans dat niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het ggo en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein.

### **3.6 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de menselijke gezondheid van mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en personen die werken met, in contact komen met of in de nabijheid komen van de ggo-introductie(s)**

In de genetisch gemodificeerde AAV vector zijn de *rep* en *cap* genen verwijderd waardoor de vector replicatiedeficiënt is. AAV infecties komen veelvuldig voor, over de hele wereld, zonder dat daarmee enig ziektebeeld in verband wordt gebracht. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties. Aangezien de virale vector replicatiedeficiënt is, zal de virale vector slechts tijdelijk vanuit de proefpersoon in het milieu terecht kunnen komen. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal echter vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. De kans dat derden geïnfecteerd raken met het ggo en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein.

### **3.7 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de gezondheid van dieren en effecten op de voeder/voedselketen van consumptie van het ggo en alle daarvan afgeleide producten indien deze voor diervoeder bestemd zijn**

Consumptie dan wel toepassing als diervoeder vindt niet plaats. Mogelijke gevolgen zijn daarom niet aan de orde.



---

**3.8 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op biogeochemische processen die veroorzaakt worden door mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en doelwit- en niet-doelwitorganismen in de nabijheid van de ggo-introductie(s)**

Het in deze studie(s) te gebruiken ggo zal, zoals kenmerkend is voor virussen, buiten een gastheer geen activiteit vertonen. Mogelijke effecten op biogeochemische processen zijn daarom niet aan de orde.

**3.9 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde, directe en indirecte milieueffecten van de specifieke technieken die voor het beheer van de ggo's worden gebruikt, indien deze verschillen van de voor non-ggo's gebruikte technieken (mogelijke verandering in de staande medische praktijk)**

Toepassing van het ggo zal niet leiden tot veranderingen in de medische praktijk die nadelige effecten hebben op mens en milieu. Het doel van de studie(s) is om nieuwe medische therapieën te ontwikkelen. Hier zijn geen nadelige gevolgen voor mens of milieu aan verbonden.



## BIJLAGE 2 BIJ DE TOELICHTING VAN DE REGELING TOT WIJZIGING VAN DE REGELING GGO

Gestandaardiseerde milieurisicobeoordeling voor humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van muizen gamma-retrovirussen dan wel humaan immunodeficiëntievirus, waarbij geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze retrovirale of lentivirale partikels afwezig zijn.

### 1. KENMERKEN VAN DE GEBRUIKTE GGO'S EN HUN INTRODUCTIE

#### 1.1 Het uitgangsgenoom

##### *Humane cellen*

De humane cellen zijn afkomstig van de proefpersoon zelf (autoloog) dan wel van een donor (allogeen). Humaan immunodeficiëntievirus (HIV) positieve proefpersonen en HIV positieve donoren zijn uitgesloten van studies waarbij lentivirale vectoren worden toegepast.

##### *Muizen gamma-retrovirus*

De retrovirale vector is gebaseerd op een muizen gamma-retrovirus. Dit virus behoort tot de familie *Retroviridae* en het genus *Gammaretrovirus*. Het wildtype genoom bevat drie open leesramen coderend voor de structurele genen *gag*, *pol* en *env*. Aan het uiteinde van het genoom bevinden zich aan weerszijden de *Long Terminal Repeats* (LTR's), welke een rol spelen bij reverse transcriptie, integratie van het provirus in het genoom van de gastheer en regulatie van de synthese van het retrovirale RNA. Verder bevat het genoom cis-acterende sequenties betrokken bij virale replicatie, packaging en genexpressie.

Muizen gamma-retrovirussen kunnen worden verspreid via bloed en van moeder op nageslacht. Een infectie met muizen gamma-retrovirussen kan resulteren in tumorvorming in de gastheer. Tot op heden is er geen bewijs gevonden dat muizen gamma-retrovirussen infecties in mensen kunnen veroorzaken.

##### *Humaan immunodeficiëntievirus*

De lentivirale vector is gebaseerd op HIV. Dit virus behoort tot de familie *Retroviridae* en het genus *Lentivirus*. Het wildtype genoom bevat negen open leesramen coderend voor de structurele genen *gag*, *pol* en *env*, de regulatoire genen *tat* en *rev* en de accessoire genen *vif*, *vpr*, *nef*, en afhankelijk van het type *vpu* (in geval van HIV-1) dan wel *vpx* (in geval van HIV-2). Aan het uiteinde van het genoom bevinden zich aan weerszijden de LTR's, welke een rol spelen bij reverse transcriptie, integratie van het provirus in het genoom van de gastheer en regulatie van de synthese van het lentivirale RNA. Verder bevat het genoom cis-acterende sequenties betrokken bij virale replicatie, packaging en genexpressie.

Het gastheerbereik van HIV is beperkt tot mensen en apen. HIV wordt verspreid via seksueel contact, bloedtransfusie, besmette injectiespuiten en van moeder naar kind gedurende de zwangerschap, bevalling en via borstvoeding. Infectie met HIV kan resulteren in AIDS (*Acquired Immune Deficiency Syndrome*). Een HIV infectie wordt doorgaans onder controle gehouden met behulp van antiretrovirale medicatie.

#### 1.2 De modificatie

Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte retrovirale dan wel lentivirale vector te complementeren.

#### 1.3 Het ggo

##### *Constructie van de virale vector*

De gebruikte virale vector is gebaseerd op een muizen gamma-retrovirus dan wel HIV. De LTR's in het virale vectorgenoom dienen zelf-inactiverend (SIN) te zijn voor studies waarbij lentivirale vectoren worden toegepast. De gebruikte productiecellen zijn vrij van HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2 en andere relevante retrovirussen en lentivirussen die kunnen leiden tot complementatie dan wel recombinatie van de retrovirale dan wel lentivirale vector.



## *Constructie van de genetisch gemodificeerde cellen*

Voor de constructie van de genetisch gemodificeerde cellen is een replicatiedeficiënte retrovirale vector dan wel replicatiedeficiënte lentivirale vector gebruikt. Het virusdeeltje kan slechts éénmaal een cel infecteren, waardoor het effect uitdovend zal zijn. Met de virusdeeltjes worden cellen van de proefpersoon dan wel de donor *ex vivo* getransduceerd waarna het virale vectorgenoom stabiel geïntegreerd wordt in het genomisch DNA van de cel.

### *Virulentie en stabiliteit van het ggo*

Het ggo bestaat uit *ex vivo* retroviraal dan wel lentiviraal getransduceerde humane cellen. De genetisch gemodificeerde cellen kunnen gedurende lange tijd in de proefpersoon aanwezig blijven.

De genetisch gemodificeerde cellen kunnen vanuit de proefpersoon in het milieu terechtkomen en verspreiden naar derden via bloed, lymfe of excreta. Echter, de cellen kunnen buiten het lichaam van de gastheer (de proefpersoon) niet overleven.

## **1.4 Werkzaamheden**

### *Productie*

De productie van de genetisch gemodificeerde retrovirale dan wel lentivirale partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen maakt geen onderdeel uit van de aanvraag. De genetisch gemodificeerde retrovirale dan wel lentivirale partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen zijn geproduceerd onder (*current*) *Good Manufacturing Practice* (GMP) dan wel onder de principes van (*current*) GMP.

Het productieproces is van dusdanige aard dat er geen residuele infectieuze retrovirale dan wel lentivirale partikels aanwezig zijn in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend. Tevens is er geen replicatiecompetent retrovirus dan wel replicatiecompetent lentivirus aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.

### *Transport*

Intern transport van de genetisch gemodificeerde humane cellen vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.

### *Opslag*

De genetisch gemodificeerde humane cellen worden opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang. Monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

### *Preparatie en toediening*

Preparatie en toediening van de genetisch gemodificeerde humane cellen vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

### *Monsterafname en verwerking*

Afnemen van monsters van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen. Monsters afkomstig van proefpersonen uit studies waarbij humane cellen getransduceerd met retrovirale vectoren worden toegepast, die de genetisch gemodificeerde humane cellen kunnen bevatten, worden niet in kweek gebracht.

### *Afvalverwerking en besmet materiaal*

Afval dat de genetisch gemodificeerde humane cellen bevat dan wel in aanraking is geweest met de genetisch gemodificeerde humane cellen gedurende preparatie en toediening, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat. Afval van monsters, monsterafname en van verwerking van monsters afkomstig van de proefpersonen die de genetisch gemodificeerde humane



cellen kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

Niet wegwerpbaar materialen worden gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans, dan wel geautoclaveerd. In geval van morsen worden besmette oppervlakken gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans.

### **1.5 Interactie met het milieu**

De getransduceerde cellen kunnen buiten de gastheer (de proefpersoon) niet overleven. In de getransduceerde cellen is de virale vector stabiel geïntegreerd.

## **2. MILIEURISICOBEOORDELING**

De milieurisicobeoordeling is een technisch-wetenschappelijk werkproces waarbij de mogelijke risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu die verbonden zijn aan de werkzaamheden inzichtelijk worden gemaakt.

### **2.1 Algemeen**

In de milieurisicobeoordeling wordt beoordeeld of en hoe derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld kunnen worden aan het ggo, en of vervolgens transmissie van het ggo naar derden en niet-doelwitorganismen op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als het ggo wordt overgedragen naar derden of niet-doelwitorganismen.

### **2.2 Het ggo**

#### *De genetisch gemodificeerde cellen*

Het ggo bestaat uit humane cellen welke getransduceerd zijn met een replicatiedeficiënte retrovirale dan wel replicatiedeficiënte lentivirale vector.

### **2.3 Mogelijke schadelijke effecten van het ggo en de evaluatie van de mogelijke gevolgen van deze effecten**

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan de persistentie van de genetisch gemodificeerde humane cellen*

Na transductie van de cel zal de virale vector in het gastheergenoom integreren. Hierdoor bestaat de kans op ontregeling van genen betrokken bij proliferatie waardoor tumoren kunnen ontstaan. Mogelijke schadelijke effecten die zouden kunnen optreden door expressie van de genproducten zoals aanwezig in de expressiecassette, zullen afhankelijk zijn van de eigenschappen van de specifieke inserties.

#### *Schadelijke effecten gerelateerd aan recombinatie met of complementatie van virale sequenties uit het geïntegreerde construct*

De virale vector kan in theorie recombineren indien een retrovirus of lentivirus in dezelfde cel aanwezig is als de vector. Hierdoor is er een theoretische kans op het ontstaan van recombinant, replicatiecompetent virus en verspreiding naar derden en niet-doelwitorganismen, waarbij mogelijke schadelijke effecten die dientengevolge zouden kunnen optreden afhankelijk zullen zijn van de eigenschappen van de gevormde deeltjes.

De verloren functies van de virale vector kunnen in theorie gecompenseerd worden indien een retrovirus of lentivirus in dezelfde cel aanwezig is als de vector. De expressie-producten van het wildtype virus kunnen in dat geval gebruikt worden door de vector, wat de replicatiedeficiënte vector de mogelijkheid biedt te repliceren en andere cellen te infecteren. Hierdoor is er een theoretische kans op verspreiding naar derden en niet-doelwitorganismen, waarbij mogelijke schadelijke effecten die dientengevolge zouden kunnen optreden afhankelijk zullen zijn van de eigenschappen van de gevormde deeltjes.



## **2.4 Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect**

*Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie van de genetisch gemodificeerde humane cellen zullen optreden*

Genetisch gemodificeerde cellen kunnen gedurende lange tijd in de proefpersoon aanwezig blijven. De genetisch gemodificeerde cellen kunnen vanuit de proefpersoon in het milieu terechtkomen via bloed, lymfe of excreta. De genetisch gemodificeerde cellen kunnen onder andere verspreid worden naar derden via accidentele injectie of contact met een open wond of het slijmvlies van de ogen, neus en mond. De kans op nadelige effecten van de genetisch gemodificeerde cellen in het milieu is verwaarloosbaar klein omdat de cellen buiten het lichaam van de gastheer (de proefpersoon) niet kunnen overleven. Indien de genetisch gemodificeerde cellen in een ander individu dan de proefpersoon terechtkomen, dan zullen deze cellen doorgaans vernietigd worden door de afweerreactie tegen deze lichaamsvreemde cellen. Behalve deze afweerreactie zijn hierbij geen bijwerkingen te verwachten.

Indien de genetisch gemodificeerde cellen in een immuungecompromiteerd persoon terechtkomen dan bestaat er een theoretische kans dat deze cellen in deze persoon kunnen persisteren. In dit geval kunnen dezelfde effecten optreden als in de proefpersoon. Doordat de hoeveelheid genetisch gemodificeerde cellen in derden vele malen kleiner zal zijn dan in de proefpersoon en er geen sprake is van preconditionering in derden, wordt de kans op negatieve effecten verwaarloosbaar klein geacht.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid van het optreden van mogelijke schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie van de genetisch gemodificeerde humane cellen verwaarloosbaar klein is.

*Waarschijnlijkheid van de kans op mobilisatie van of recombinatie met de virale vector met andere virussen*

Het is zeer onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde cellen recombinatie optreedt tussen de retrovirale dan wel lentivirale vector en humane retrovirussen die mogelijk in de cellen aanwezig kunnen zijn, aangezien de mate van homologie tussen deze virussen gereduceerd is door deleties en mutaties in de virale vector. Tevens is de waarschijnlijkheid dat de verloren functies van de virale vector gecompenseerd worden, indien een retrovirus dan wel lentivirus in dezelfde cel aanwezig is als de virale vector, verwaarloosbaar klein.

Tot op heden is er geen bewijs gevonden dat muizen gamma-retrovirussen infecties in mensen kunnen veroorzaken. Het niet uitsluiten van proefpersonen dan wel donoren met een HTLV infectie bij *ex vivo* toepassingen met retrovirale dan wel lentivirale vectoren heeft geen invloed op de milieurisicobeoordeling. HIV positieve proefpersonen en HIV positieve donoren zijn uitgesloten van studies waarbij lentivirale vectoren worden toegepast. Daarnaast is de lentivirale transfervector SIN. Dit houdt in dat uit de vector een deel van de 3' LTR, het zogenaamde U3 domein, verwijderd is. Hierdoor wordt, in het geval van een infectie van de getransduceerde cel met een wildtype lentivirus, de kans op mobilisatie van de vector uit het genoom van de gastheer aanzienlijk gereduceerd.

In theorie is er ook een mogelijkheid tot het ontstaan van replicatiecompetent virus door recombinatie van de virale vector met humane endogene retrovirale (HERV) sequenties. HERV sequenties zijn aanwezig in het humane genoom. Door accumulatie van vele inactiverende mutaties coderen deze sequenties niet voor replicatiecompetente HERVs. Voor recombinatie tussen de virale vector en HERV sequenties is de aanwezigheid van sequentiehomologie noodzakelijk. Aangezien er beperkte sequentiehomologie aanwezig is en de virale vector slechts een gedeelte van het virale genoom bevat, is het onwaarschijnlijk dat recombinatie met HERV sequenties zal plaatsvinden.

De kans dat er recombinatie dan wel complementatie optreedt in de proefpersoon dan wel in derden is op grond van de bovenstaande overwegingen verwaarloosbaar klein.

## **2.5 Schatting van het algehele risico van het ggo**

Het algehele milieurisico van de toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein.

## **2.6 Maatregelen voor risicobeheer**

Er zijn vanuit milieurisico oogpunt geen maatregelen voor risicobeheer noodzakelijk.

## **3. CONCLUSIES VAN MOGELIJKE MILIEUEFFECTEN VAN DE INTRODUCTIE**

In bijlage II, onder D1, van de Richtlijn 2001/18 wordt een aantal punten opgesomd die, waar passend,



dienen als basis voor de conclusies over de mogelijke milieueffecten van de voorgenomen introductie van de ggo's in het milieu. Voor de volledigheid van de risicobeoordeling worden al deze punten hieronder opgesomd met hun bijbehorende conclusies.

### ***3.1 Waarschijnlijkheid dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie***

De waarschijnlijkheid dat de genetisch gemodificeerde cellen persistent en invasief worden is verwaarloosbaar klein, omdat de genetisch gemodificeerde cellen op zichzelf, buiten de proefpersoon, niet levensvatbaar zijn. De genetisch gemodificeerde cellen zullen in derden naar verwachting geen verhoogde persistentie of invasiviteit hebben in vergelijking met niet gemodificeerde cellen. Het risico dat het ggo in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt is verwaarloosbaar klein.

### ***3.2 Selectieve voordelen of nadelen die op het ggo worden overgedragen en de waarschijnlijkheid dat zulks geschiedt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie(s)***

De waarschijnlijkheid van een verhoogd selectief voordeel bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar klein. De genetisch gemodificeerde cellen zijn op zichzelf, buiten de proefpersoon, niet levensvatbaar en zullen in het milieu niet persisteren. De genetisch gemodificeerde cellen zullen in derden naar verwachting geen selectieve voordelen hebben in vergelijking met niet gemodificeerde cellen. Derhalve zijn de risico's van selectieve voordelen of nadelen die op het ggo zijn overgedragen verwaarloosbaar klein.

### ***3.3 Kans op genoverdracht op andere soorten onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie van het ggo en selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten worden overgedragen***

De voor de vervaardiging gebruikte virale vector is stabiel geïntegreerd in het cellulaire genoom en zal niet als residueel deeltje aanwezig zijn. Daarnaast is er geen replicatiecompetent retrovirus dan wel replicatiecompetent lentivirus aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend. De kans dat er recombinatie dan wel complementatie optreedt in de proefpersoon dan wel in derden is verwaarloosbaar klein.

### ***3.4 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en doelwitorganismen (indien van toepassing)***

Het doelwitorganisme van een klinische studie is de proefpersoon. Proefpersonen vallen buiten het beoordelingskader van de Richtlijn 2001/18. De mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de proefpersonen en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies worden beoordeeld door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO) en worden door de CCMO getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO).

### ***3.5 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en niet-doelwitorganismen, inclusief de effecten op de populatie van concurrenten, prooien, gastheren, symbionten, predatoren, parasieten en ziekteverwekkers***

De werkzaamheden vinden plaats in een gecontroleerde ziekenhuissetting waardoor er geen sprake is van direct of indirect contact tussen het ggo en het milieu anders dan mensen. Mogelijke gevolgen zijn daarom niet aan de orde.

### ***3.6 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de menselijke gezondheid van mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en personen die werken met, in contact komen met of in de nabijheid komen van de ggo-introductie(s)***

De kans op nadelige effecten van de genetisch gemodificeerde cellen in het milieu is verwaarloosbaar klein omdat de cellen buiten het lichaam van de gastheer (de proefpersoon) niet kunnen overleven. Indien de genetisch gemodificeerde cellen in een ander individu dan de proefpersoon terechtkomen, dan zullen deze cellen doorgaans vernietigd worden door de afweerreactie tegen deze lichaamsvreemde cellen. De kans dat derden geïnfecteerd raken met de genetisch gemodificeerde cellen én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden is verwaarloosbaar klein.





---

**3.7 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de gezondheid van dieren en effecten op de voeder/voedselketen van consumptie van het ggo en alle daarvan afgeleide producten indien deze voor diervoeder bestemd zijn**

Consumptie dan wel toepassing als diervoeder vindt niet plaats. Mogelijke gevolgen zijn daarom niet aan de orde.

**3.8 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op biogeochemische processen die veroorzaakt worden door mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en doelwit- en niet-doelwitorganismen in de nabijheid van de ggo-introductie(s)**

De werkzaamheden vinden plaats in een gecontroleerde ziekenhuissetting waardoor er geen sprake is van direct of indirect contact tussen het ggo en het milieu anders dan mensen. Mogelijke gevolgen zijn daarom niet aan de orde.

**3.9 Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde, directe en indirecte milieueffecten van de specifieke technieken die voor het beheer van de ggo's worden gebruikt, indien deze verschillen van de voor non-ggo's gebruikte technieken (mogelijke verandering in de staande medische praktijk)**

Toepassing van het ggo zal niet leiden tot veranderingen in de medische praktijk die nadelige effecten hebben op mens en milieu. Het doel van de studie(s) is om nieuwe medische therapieën te ontwikkelen. Hier zijn geen nadelige gevolgen voor mens of milieu aan verbonden.