



Regeling van de Minister van Infrastructuur en Waterstaat, van 15 september 2021, nr. IENW/BSK-2021/227811, tot wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (invoegen vergunning onder vaste voorschriften en aanpassing bijlagen 5, 9 en 10)

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 2, eerste lid, wordt als volgt gewijzigd:

1. In de begripsomschrijving van '*derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem*' komt onderdeel d te luiden:

- d. de genen voor replicatie en packaging zijn verdeeld over de andere drie plasmiden waarop het packaging signaal en de LTR's ontbreken en het pseudotyperingsenvelopeiwit is afkomstig van andere virussen dan lentivirussen;

2. In de begripsomschrijving van '*translentiviraal vectorsysteem*' komt onderdeel e te luiden:

- e. de overige genen voor replicatie en packaging zijn verdeeld over de andere vier plasmiden waarop het packaging signaal en de LTR's ontbreken en het pseudotyperingsenvelopeiwit is afkomstig van andere virussen dan lentivirussen;

3. In de begripsomschrijving van '*tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem*' komt onderdeel d te luiden:

- d. de genen voor replicatie en packaging zijn verdeeld over de andere twee plasmiden waarop het packaging signaal en de LTR's ontbreken en het pseudotyperingsenvelopeiwit is afkomstig van andere virussen dan lentivirussen;

B

Na artikel 39b worden twee artikelen ingevoegd, luidende:

Artikel 39c

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 humaan immunodeficiëntievirus 1 en gepseudotyperd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G), waarbij er geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze SIN lentivirale partikels in het medisch product aanwezig kunnen zijn.

Artikel 39d

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 Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties.



C

Na artikel 40b worden twee artikelen ingevoegd, luidende:

Artikel 40c

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 39c 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 39c aangewezen lentivirale vectoren;
- f. een beschrijving van de in artikel 39c aangewezen lentivirale vectoren en de daarin aangebrachte modificaties;
- g. gegevens betreffende de moleculaire karakterisering van de in artikel 39c aangewezen lentivirale vectoren;
- h. gegevens betreffende het medisch product, bedoeld in artikel 39c, dat aan de proefpersonen wordt toegediend;
- i. gegevens over de afwezigheid van replicatiecompetent lentivirus;
- j. gegevens over de hoeveelheid residuele infectieuze partikels in het medisch product, bedoeld in artikel 39c, dat aan de proefpersoon wordt toegediend;
- k. een ingevuld deel B Summary Notification Information Format.

Artikel 40d

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 39d, 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 39d bedoelde virale vectoren;
- f. een beschrijving van de in artikel 39d bedoelde virale vectoren en de daarin aangebrachte modificaties;
- g. gegevens betreffende de moleculaire karakterisering van de in artikel 39d bedoelde virale vectoren;
- h. gegevens betreffende het medisch product, bedoeld in artikel 39d, dat aan de proefpersoon wordt toegediend;
- i. gegevens betreffende de mogelijkheid tot vorming van replicatiecompetent Adeno-associated dependoparvovirus;
- j. gegevens over de afwezigheid van infectieus helpervirus;
- k. een ingevuld deel B Summary Notification Information Format.

D

Na artikel 41b worden twee artikelen ingevoegd, luidende:

Artikel 41c

Activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen aangewezen in artikel 39c, 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 D.

Artikel 41d

Activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen aangewezen in artikel 39d, 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 E.



E

Bijlage 5 wordt als volgt gewijzigd:

1. In inschalingsartikel 5.4.1, onderdeel h, wordt na 'of voor de vorming van een defect Adeno-associated dependoparvovirus A of B' ingevoegd 'of coderend voor een lentivirale transfervector die afgeleid is van HIV' en wordt voor de punt aan het slot ingevoegd ', ML-I'.
2. Inschalingsartikel 5.4.2 wordt als volgt gewijzigd:
 - a. Na '**Virale vectoren afgeleid van virusgroep A**' wordt onder vervanging van de punt aan het slot van onderdeel vi door een puntkomma, een onderdeel toegevoegd, luidende:
 - vii. lentivirus dat wordt vervaardigd met een tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, een derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem of een translentiviraal vectorsysteem.
 - b. Na '**Virale vectoren afgeleid van virusgroep B**' vervalt, onder vervanging van de puntkomma door een punt aan het slot van onderdeel ii, onderdeel iii.
3. Inschalingsartikel 5.6.2 onderdeel b, onderdeel iv, vervalt.
4. Aan inschalingsartikel 5.9.2 wordt na onderdeel a een onderdeel ingevoegd, luidende:
 - b. Activiteiten op ML-I met een genetisch gemodificeerd tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, translentiviraal vectorsysteem of een lentivirale transfervector die afgeleid is van HIV.
Inschaling: ML-I onder toepassing van de aanvullende voorschriften voor activiteiten met een tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, een derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, translentiviraal vectorsysteem of een lentivirale transfervector die afgeleid is van HIV.
5. Inschalingsartikel 5.10.2, onderdeel c vervalt.
6. Inschalingsartikel 5.10.4, onderdeel b, komt te luiden:
 - b. Activiteiten op ML-II met eieren in associatie met genetisch gemodificeerd retrovirus of adenovirus.
Inschaling: ML-II onder toepassing van de aanvullende voorschriften voor activiteiten met eieren in associatie met retrovirus of adenovirus.

7. Inschalingsartikel 5.14.1, onderdeel c vervalt.

F

Bijlage 9 wordt als volgt gewijzigd:

1. Na punt 9.1.1.1.3.5 wordt een nieuw punt ingevoegd, luidende:
 - 9.1.1.1.3.6. Voor activiteiten met een genetisch gemodificeerd tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, translentiviraal vectorsysteem of een lentivirale transfervector die afgeleid is van HIV**
 - a. Het te gebruiken gastheer materiaal is vrij van HIV-1, HIV-2, HTLV-1 en -2, SIV en andere lentivirussen.
2. Punt 9.1.1.3.3.5 vervalt.
3. Het opschrift van punt 9.1.1.3.3.15 komt te luiden:
 - 9.1.1.3.3.15. Voor activiteiten met eieren in associatie met genetisch gemodificeerd retrovirus of adenovirus**
4. Punt 9.1.6.2.3.3 vervalt.



G

Bijlage 10 wordt als volgt gewijzigd:

1. In het opschrift wordt '41b' vervangen door '41d'.
2. Na artikel C:10 worden 2 delen toegevoegd, luidende:

Deel D

Deel D van deze bijlage is ingevolge artikel 39c van deze regeling van toepassing op klinische studies met humane cellen, genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van humaan immunodeficiëntievirus (HIV) 1 en gepseudotypeerd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G), waarbij er geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze SIN lentivirale partikels in het medisch product aanwezig kunnen zijn, waarvoor een vergunning onder vaste voorschriften is verleend krachtens paragraaf 3.3.2 van het Besluit.

Artikel D:1. Looptijd vergunning

De vergunning vervalt na 10 jaar.

Artikel D: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 D: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 D: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 D:3 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel D:3 aan de Minister of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

Artikel D:5. Voorkomen van vermenging en verspreiding

1. De genetisch gemodificeerde 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. De gebruikte productiecellen zijn vrij van HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, en andere relevante lentivirussen die kunnen leiden tot complementatie van dan wel recombinitie van de lentivirale vector.
3. De gebruikte virale vector is een derde generatie lentivirale vector gebaseerd op HIV-1. De LTR's in het virale vectorgenoom zijn zelf-inactiverend (SIN).
4. Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte lentivirale vector te complementeren. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties.
5. Er is geen replicatiecompetent lentivirus aanwezig in het medisch product, bedoeld in artikel 39c, dat aan de proefpersoon wordt toegediend. In het medisch product zijn maximaal 1×10^{12} virusdeeltjes aanwezig.
6. Preparatie en toediening van het medisch product, bedoeld in artikel 39c, vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
7. Afnemen van monsters van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39c, kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.



8. Niet wegwerpbare materialen worden gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans, dan wel geautoclaveerd.
9. In geval van morsen worden besmette oppervlakken gedesinfecteerd met een geschikt gevalideerd desinfectans.
10. Na toediening van het medisch product, bedoeld in artikel 39c, blijft de proefpersoon minimaal 16 uur in het ziekenhuis opgenomen, zodat de standaard ziekenhuishygiënische maatregelen in acht genomen kunnen worden.
11. Na toediening van het medisch product, bedoeld in artikel 39c, wordt de infuusinsteekplaats met een adequate methode gedesinfecteerd om resterende virusdeeltjes te inactiveren, en worden standaard ziekenhuishygiënische maatregelen tijdens de verzorging van de proefpersoon in acht genomen.
12. Proefpersoon, medisch personeel en bezoekers worden voorgelicht hoe de eerste 16 uur na toediening van het medisch product, bedoeld in artikel 39c, met wondverzorging en besmet materiaal moet worden omgegaan.

Artikel D:6. Opslag

1. Het medisch product, bedoeld in artikel 39c, wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang.
2. Monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39c, kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

Artikel D:7. Transport

1. Intern transport van het medisch product, bedoeld in artikel 39c, vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking.
2. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39c, kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.

Artikel D:8. Afvalverwerking

1. Afval dat het medisch product, bedoeld in artikel 39c, bevat dan wel in aanraking is geweest met dat medisch product 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 het medisch product, bedoeld in artikel 39c, kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

Artikel D:9. Rapportage

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

Artikel D: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 E

Deel E van deze bijlage is ingevolge artikel 39d van deze regeling van toepassing op klinische studies met humane cellen genetisch gemodificeerd met 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 E:1. Looptijd vergunning

De vergunning vervalt na 10 jaar.

Artikel E: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 E: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 E: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 E:3 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel E:3 aan de Minister of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

Artikel E:5. Voorkomen van vermenging en verspreiding

1. De genetisch gemodificeerde AAV partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen 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, bedoeld in artikel 39d, dat aan de proefpersoon wordt toegediend.
3. Preparatie en toediening van het medisch product, bedoeld in artikel 39d, vindt plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.
4. Afnemen van monsters van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39d, 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 E:6. Opslag

1. Het medisch product, bedoeld in artikel 39d, wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang.
2. Monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39d, kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

Artikel E:7. Transport

1. Intern transport van het medisch product, bedoeld in artikel 39d, vindt plaats in een gesloten, breukvaste, lekdichte verpakking.
2. Intern transport van monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product, bedoeld in artikel 39d, kunnen bevatten, vindt plaats conform het transport van reguliere patiëntenmonsters.



Artikel E:8. Afvalverwerking

1. Afval dat het medisch product, bedoeld in artikel 39d, bevat dan wel in aanraking is geweest met dat medisch product 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 het medisch product, bedoeld in artikel 39d, kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

Artikel E:9. Rapportage

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

Artikel E: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 1 oktober 2021.

Deze regeling zal met de toelichting in de Staatscourant worden geplaatst.

*De Minister van Infrastructuur en Waterstaat,
B. Visser*



TOELICHTING

Inleiding

De Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (hierna: Regeling ggo) bevat technische voorschriften voor activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen (hierna: ggo's). Ten aanzien van het ingeperkt gebruik – werken met ggo's in geperkte ruimten zoals laboratoria – bevat de Regeling een aantal bijlagen die van toepassing zijn op het doen van een risicobeoordeling voor activiteiten met ggo's. Het doel van die risicobeoordeling en de daaruit voortvloeiende maatregelen is te bewerkstelligen dat het risico voor de mens en het milieu bij het werken met ggo's niet hoger is dan verwaarloosbaar klein. De bijlagen bij de Regeling ggo stellen de gebruikers in staat een risicobeoordeling op te stellen en op basis daarvan kennisgevingen en vergunningaanvragen te doen. Deze bijlagen moeten regelmatig aangepast worden om te voldoen aan de laatste stand van de techniek, dat wil zeggen de laatste wetenschappelijke kennis. De onderhavige wijzigingsregeling wijzigt hiertoe artikel 2 en de bijlagen 5 en 9 bij de Regeling ggo.

Ten aanzien van de introductie in het milieu van ggo's – zoals het toepassen van ggo's in klinische studies – bevat bijlage 10 bij de Regeling ggo de standaardvoorschriften voor een vergunning onder vaste voorschriften (hierna: VOV), die gelden voor klinische studies met categorieën van ggo's waarvoor de milieugevolgen goed onderzocht zijn en waarvan de toepassing in alle omstandigheden tot een verwaarloosbaar risico leidt. In Europees verband is van twee nieuwe categorieën van ggo's vastgesteld dat toepassing altijd tot verwaarloosbaar risico leidt, waardoor deze categorieën van ggo's kunnen worden aangewezen als ggo's waarvoor voor klinische studies een VOV verleend kan worden. De onderhavige wijzigingsregeling voegt daartoe enkele artikelen toe en vult bijlage 10 aan.

De wijzigingen zijn geheel technisch van aard en doen geen afbreuk aan het veilig werken met ggo's.

Werking bijlagen 5 en 9 bij de Regeling ggo

Een gebruiker moet, voorafgaand aan het ingeperkt gebruik van ggo's, een beoordeling maken van de risico's van dat gebruik voor de gezondheid van de mens en het milieu. Voor activiteiten met een groot aantal groepen van soortgelijke ggo's heeft de Minister van Infrastructuur en Waterstaat (hierna: Minister) die risicobeoordelingen al uitgevoerd. De uitkomsten van al die risicobeoordelingen zijn vastgelegd in bijlage 5. Voor voorgenomen activiteiten met ggo's die behoren tot een groep van soortgelijke ggo's die in bijlage 5 is opgenomen, leidt de gebruiker de uitkomst van de risicobeoordeling af uit bijlage 5. Hij hoeft voor deze activiteiten de risicobeoordeling niet zelf uit te voeren. Bijlage 5 bestaat uit twee delen. De uitkomst van de risicobeoordeling in deel I van bijlage 5 bepaalt in welke categorie van fysieke inperking (het type werkruimte of de installatie) de activiteiten met ggo's dienen te worden uitgevoerd. In de bepaling van de categorie van fysieke inperking zit besloten welk inperkingsniveau (welk veiligheidsniveau en standaard procedure) moet worden toegepast. Dit wordt inschalen genoemd, vastgelegd in inschalingsartikelen. Indien de inschaling volgens deel I leidt tot inperkingsniveau I of II, dient in deel II van bijlage 5 te worden nagegaan of er, naast de categorie van fysieke inperking, aanvullende voorschriften dienen te worden toegepast om de werkzaamheden in specifieke gevallen dan wel met specifieke ggo's op inperkingsniveau I of II veilig te kunnen uitvoeren.

In bijlage 9 zijn alle voorschriften opgenomen die aan iedere categorie van fysieke inperking worden gesteld, alsmede de eventuele extra voorschriften die volgen uit deel II van bijlage 5¹.

Wijzigingen in artikel 2 en bijlagen 5 en 9 (artikel I, onderdelen A, E en F)

Naar aanleiding van de adviezen van de Commissie Genetische Modificatie (hierna: COGEM) met gewijzigde inzichten over de inschaling van werkzaamheden met replicatiedeficiënte lenti- en gammaretrovirale vectordeeltjes² en het vervolgdadvies daarop³, is de uitkomst van de risicobeoordeling voor een aantal groepen van soortgelijke genetisch gemodificeerde organismen veranderd. In de genoemde adviezen is geadviseerd om bepaalde activiteiten met het tweede generatie SIN lentiviraal vectorsysteem, het derde generatie SIN lentiviraal vectorsysteem en het translentiviraal

¹ Zie voor een nadere toelichting paragraaf 3.2 van de toelichting bij de Regeling ggo (Stcrt. 2014, 11317, blz. 213 e.v.).

² Heroverweging inschaling werkzaamheden replicatiedeficiënte lenti- en gammaretrovirale vectordeeltjes, CGM/210218-01, 18 februari 2021.

³ Vervolgdadvies Heroverweging inschaling werkzaamheden replicatiedeficiënte lenti- en gammaretrovirale vectordeeltjes, CGM/210503-01, 3 mei 2021.



vectorsysteem op ML-I uit te voeren. De conclusie van de adviezen is dat bij de transductie met en de productie van deze lentivirale vectoren de risico's voor de mens en het milieu verwaarloosbaar klein zijn wanneer deze werkzaamheden op ML-I worden uitgevoerd, aangezien bij deze systemen de mogelijkheid tot vorming van replicatiecompetent virus (RCV) op voorhand verwaarloosbaar klein is als aan de voorwaarde wordt voldaan dat de te gebruiken cellen vrij zijn van wildtype lentivirussen. De COGEM heeft eveneens in de genoemde adviezen aangegeven dat bij de productie van de genoemde vectorsystemen meer vreemde (niet-eigen) virale envelop-eiwitten gebruikt kunnen worden, omdat ook daarvoor is vastgesteld dat het gebruik van deze andere virale envelop-eiwitten niet leidt tot een hoger dan verwaarloosbaar risico. Hierdoor worden meer vectorsystemen dan voorheen toegelaten op ML-I niveau.

Als gevolg van deze adviezen zijn wijzigingen aangebracht in de definities van deze vectorsystemen (artikel 2), de inschalingen ervan in deel I van bijlage 5, de extra bepalingen in deel II van bijlage 5 en de bijbehorende voorschriften in bijlage 9.

Vergunningen onder vaste voorschriften (VOV)

Het per 23 december 2020 gewijzigde Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013⁴ (hierna: Besluit ggo) biedt de mogelijkheid om ggo's aan te wijzen waarvoor voor klinische studies een VOV kan worden verleend met een beslistermijn van maximaal 56 dagen (artikel 3.26a in verbinding met artikel 3.24 Besluit ggo).

Het aanwijzen van ggo's waarvoor een VOV kan worden verleend, is mogelijk wanneer de ggo en de te verrichten werkzaamheden onder alle omstandigheden tot een verwaarloosbaar risico zullen leiden. Ter onderbouwing daarvan wordt gebruik gemaakt van gestandaardiseerde milieurisicobeoordelingen (MRB's) die in Europese Interplay traject⁵ zijn vastgesteld en door Nederland worden onderschreven. Deze gestandaardiseerde MRB's zijn de weerslag van de vele eerdere vergunningen die voor dergelijke toepassingen zijn verleend en de positieve ervaringen ermee. Zie voor uitleg de nota van toelichting bij de wijziging van het Besluit ggo van 13 oktober 2020⁶.

Toevoeging 2 categorieën ggo's voor een VOV (artikel I, onderdelen B, C, D en G)

Sinds de laatste aanwijzing van categorieën van ggo's voor de verlening van een VOV⁷ is het voor twee nieuwe categorieën van ggo's mogelijk gebleken om die aan te wijzen voor de verlening van een VOV voor klinisch onderzoek.

Dit betreft enerzijds het gebruik van met lentivirale vectoren *ex vivo* getransduceerde humane cellen waarbij in het eindproduct nog residuele lentivirale partikels aanwezig kunnen zijn en anderzijds het gebruik van met AAV vectoren *ex vivo* getransduceerde humane cellen. Het document waarin de Europese Interplay afspraken zijn vastgelegd, is met de generieke milieurisicobeoordeling (MRB) voor deze twee categorieën uitgebreid⁸.

In de Europese Interplay afspraken voor de toepassing van met lentivirale vectoren *ex vivo* getransduceerde humane cellen waarbij in het eindproduct nog residuele lentivirale partikels aanwezig zijn, wordt het uitgangspunt gehanteerd dat voor iedere toepassing individueel een aanvraag met bijbehorende casusspecifieke milieurisicobeoordeling ingediend moet worden. Dit uitgangspunt is echter ongeschikt als basis voor het opstellen van standaardregels voor een nieuwe categorie voor een vergunning onder vaste voorwaarden.

⁴ Besluit van 13 oktober 2020 tot wijziging van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie) (Stb. 2020, 409).

⁵ Overleg tussen de Europese Commissie en de lidstaten om de uitvoering van de Europese regels over klinische proeven waarbij genetische modificatie wordt gebruikt (gentherapie) te verbeteren.

⁶ Besluit van 13 oktober 2020 tot wijziging van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie) (Stb. 2020, 409), nota van toelichting, onder b. Procedurelast gentherapie (blz. 7 e.v.)

⁷ Staatscourant 2020, nr. 63350. Regeling van de Minister van Infrastructuur en Waterstaat van 11 december 2020, nr. IENW/BSK-2020/231778 tot wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (vervallen onderscheid II-k en II-v en wijziging procedure gentherapie).

⁸ Good Practice on the assessment of GMO-related aspects in the context of clinical trials with human cells genetically modified by means of viral vectors, version 4, December 2020 – Adaptation of requirements regarding absence/residual presence of infectious viral vector particles in the finished product (for human cells modified by means of retro/lentiviral vectors) and inclusion of requirements for human cells modified by means of AAVs.(gmcalls_gp_en.pdf (europa.eu)).



Op basis van meerdere COGEM-adviezen^{9,10,11} is vastgesteld dat uitsluitend *ex-vivo* getransduceerde humane cellen vervaardigd met lentivirale vectoren afgeleid van humaan immunodeficiëntievirus 1 (HIV-1) en gepseudotypeerd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G), ook wanneer residuele viruspartikels in het medisch product aanwezig zijn, een voldoende afgeperkte categorie van ggo's omschrijft, waarvoor een generieke milieurisicobeoordeling met verwaarloosbaar risico als uitkomst kan worden opgesteld. Deze categorie ggo's is beperkter dan de Europese Interplay afspraken, maar valt binnen de reikwijdte van de generieke MRB zoals die Europees is afgestemd. Via de toevoeging van de artikelen 39c, 40c en 41c, alsmede het toevoegen van deel D aan bijlage 10 bij de Regeling ggo wordt het werken met *ex-vivo* getransduceerde humane cellen vervaardigd met lentivirale vectoren afgeleid van humaan immunodeficiëntievirus 1 (HIV-1) en gepseudotypeerd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G), waarbij residuele viruspartikels in het medisch product aanwezig kunnen zijn, in klinische studies onder vaste voorschriften mogelijk gemaakt.

De nieuwe categorie van ggo's van met AAV vectoren *ex vivo* getransduceerde humane cellen is een andere categorie ggo's dan waarvoor eerder het verlenen van een VOV is aangewezen¹². Bij die aanwijzing betrof het het directe gebruik van de AAV-vector in het menselijk lichaam. De nieuwe categorie betreft het gebruik van menselijke cellen die via transductie met AAV-vectoren buiten het lichaam (*ex vivo*) genetisch gemodificeerd zijn. Door de gestandaardiseerde MRB voor het directe gebruik van AAV-vectoren te combineren met de gestandaardiseerde MRB voor (*ex vivo*) genetisch gemodificeerde cellen¹³ is een nieuwe gestandaardiseerde MRB opgesteld voor het gecombineerde gebruik van deze categorieën van ggo's, waarvan de uitkomst eveneens een verwaarloosbaar risico is. Deze nieuwe gestandaardiseerde MRB is de basis voor de aanwijzing van deze categorie van ggo's voor de verlening van een VOV.

Via de toevoeging van de artikelen 39d, 40d en 41d, alsmede het toevoegen van deel E aan bijlage 10 bij de Regeling ggo wordt het werken met humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties in klinische studies onder vaste voorschriften mogelijk gemaakt.

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 twee separate bijlagen bij deze toelichting. Inspraak op deze wijzigingsregeling omvat derhalve ook inspraak op de beide MRB's.

Belang en gevolgen van de aanpassingen

Voor degene die activiteiten onder ingeperkt gebruik verrichten, bieden de aanpassingen van de bijlagen 5 en 9 het voordeel dat de genoemde vectorsystemen direct volgens de risicobeoordeling van bijlage 5 op het lagere inschalingsniveau kunnen worden ingeschaald. Het is niet meer nodig dat iedere aanvrager een eigen verzoek doet voor een individueel besluit op grond van artikel 2.8 van het Besluit ggo om tot de juiste inschaling te komen.

Bij een dergelijke aanvraag moet een groot aantal gegevens worden aangeleverd. Er geldt een beslistermijn van 45 dagen. Vervolgens kan men pas een kennisgeving doen nadat het besluit over de inschaling is genomen en daarna kan pas gebruik worden gemaakt van die organismen.

De vermindering van de administratieve lasten laat zich als volgt becijferen. Het uitvoeren van een procedure op grond van artikel 2.8 kost circa 20 uur. Gelet op de aanvragen van de afgelopen jaren, wordt ingeschat dat circa 40 procedures vermeden kunnen worden, bij een uurtarief van € 75,-.

Daardoor kan een vermindering van administratieve lasten gerealiseerd worden van $40 \times 20 \times 75 = € 60.000,-$ per jaar.

Daarnaast neemt het aantal wachtdagen ook af door de vermeden procedure. Met 40 procedures per jaar minder, bedraagt de vermindering van wachtdagen per jaar $40 \times 45 = 1.800$ dagen

Voor degene die klinisch onderzoek met gentherapie verrichten, is het voordeel dat sneller over een

⁹ Advies 'Generieke milieurisicobeoordeling voor klinische studies met *ex vivo* getransduceerde cellen', CGM/190729-01, 29 juli 2019.

¹⁰ Generiek advies over de milieurisicobeoordeling van klinische studies met *ex vivo* lentiviraal getransduceerde cellen: aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het medisch product, CGM/200507-01, 7 mei 2020.

¹¹ Briefadvies betreffende procedures van markttoelatingen van medische ggo-producten die onder de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies vallen, de MRB nader gespecificeerd, CGM/201214-02, 14 december 2020.

¹² De milieurisicobeoordeling voor genetisch gemodificeerde virale vectoren afgeleid van Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties, vastgelegd als bijlage 1 bij de wijziging van de Regeling ggo van 11 december 2020 (Stcrt. 2020 nr. 63350).

¹³ De milieurisicobeoordeling voor humane cellen genetisch gemodificeerd met een virale vector afgeleid van muizen gamma-retrovirussen / humaan immunodeficiëntievirus 1 (HIV-1), waarbij geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze lentivirale partikels afwezig zijn, vastgelegd als bijlage 2 bij de wijziging van de Regeling ggo van 11 december 2020 (Stcrt. 2020 nr. 63350).



vergunning voor het uitvoeren van het klinische onderzoek beschikt kan worden en dat de voorwaarden van die vergunning vooraf bekend zijn.

De vermindering van de administratieve lasten laat zich als volgt becijferen. Een procedure voor het aanvragen van een VOV vereist circa 20 uur minder tijd dan een standaard vergunningprocedure. Dit is dan de gerealiseerde besparing met de bijzondere (VOV)procedure. Het aantal procedures dat op korte termijn door deze toevoeging verwacht wordt is relatief beperkt, namelijk maximaal 10 voor beide VOV's. Bij een uurtarief van € 75,- brengt dat de vermindering van de administratieve lasten op jaarbasis op $10 \times 20 \times 75 = € 15.000$. Het aantal wachtdagen neemt af met 65 dagen per procedure, dus bij circa 10 procedures per jaar, bedraagt de reductie 650 dagen.

In totaal wordt met deze wijzigingsregeling een vermindering van administratieve lasten gerealiseerd van € 75.000 op jaarbasis en reductie van 2450 wachtdagen.

Voorpublicatie ontwerpregeling

Op grond van artikel 1.9, eerste lid, van het Besluit ggo is het ontwerp van deze wijzigingsregeling voorgepubliceerd in de Staatscourant¹⁴ met het doel een ieder in de gelegenheid te stellen over het ontwerp wensen en bedenkingen ter kennis van de Minister te brengen. Naar aanleiding van die voorpublicatie heeft de Minister 2 reacties ontvangen. De beide, gelijkkluidende, reacties zijn afkomstig van het BVF-platform (platform van biologischeveiligheidsfunctionarissen) en van een milieuveiligheidsfunctionaris van een academisch ziekenhuis. De zienswijzen luiden als volgt:

Zienswijze 1

In de huidige regeling staat in Bijlage 10 onder C5.2 dat HIV positieve proefpersonen zijn uitgesloten van deelname. Echter in het nieuwe onderdeel D zijn HIV-positieve proefpersonen niet uitgesloten. Is bij deze nieuwe VOV, waarbij lentivirale deeltjes wel aanwezig mogen zijn in het eindproduct, het wel toegestaan om HIV positieve proefpersonen te behandelen met lentiviraal getransduceerde cellen? Dit is namelijk eerder te verwachten bij onderdeel C van bijlage 10, omdat daar geen lentivirale partikels meer aanwezig zijn in het eindproduct. In de toelichting wordt niet onderbouwd waarom HIV-positieve patiënten in tegenstelling tot onderdeel C wel geïncubeerd mogen worden.

Reactie: Terecht wordt opgemerkt dat er een verschil is in de scope van de VOV genoemd in artikel 39b en die genoemd in artikel 39c (nieuw). Sinds de invoering van de eerstgenoemde VOV is op basis van voortschrijdend wetenschappelijk inzicht besloten om HIV-positieve proefpersonen niet (meer) uit te sluiten. Zie hiertoe het COGEM advies CGM 201214-02, waarin de COGEM de randvoorwaarden voor generieke milieurisicobeoordelingen heeft samengevat, aangevuld en deels heeft herzien. Het uitsluiten van HIV-1 en HIV-2 patiënten als randvoorwaarde bij klinische studies met lentivirale vectoren is daarbij komen te vervallen, hetgeen is verwerkt in Bijlage 10 onderdeel D en de bijbehorende milieurisicobeoordeling.

Een overeenkomstige aanpassing in Bijlage 10, onderdeel C, laat zich niet zo maar doorvoeren, omdat niet alleen de voorschriften, maar ook de basis van deze VOV, de gestandaardiseerde MRB daarvoor, herzien moet worden. Dat zal met een separate wijziging van de Regeling ggo geschieden.

Zienswijze 2

In de toelichting staat onder 1.4 op pagina 13 en onderaan op pagina 15 dat een behandelde patiënt 16 uur in het ziekenhuis opgenomen moet blijven zodat de standaard ziekenhuishygiënische maatregelen in achtgenomen kunnen worden. Deze 16 uur blijkt gebaseerd te zijn op 1×10^{12} deeltjes in het toegediende product. Deze hoeveelheid deeltjes is echter niet opgenomen als voorwaarde in de tekst van onderdeel D van Regeling ggo. Het maximale aantal deeltjes dat aanwezig mag zijn in het eindproduct moet mijns inziens opgenomen in onderdeel D van de Regeling. Dit om aan te geven dat de VOV alleen geldt als er nog maximaal 1×10^{12} deeltjes in het eindproduct aanwezig zijn. Hogere concentraties vallen dan buiten de VOV.

Reactie

De in artikel D:5, tiende lid, genoemde 16 uur is inderdaad gebaseerd op de hoeveelheid virusdeeltjes die maximaal in het medische product aanwezig mag zijn. Dit is echter ten onrechte niet als (kwaliteits)eis voor dat product opgelegd. Daarom is artikel D:5, vijfde lid, met het voorschrift dat in

¹⁴ Stcrt. 2021, nr. 33027 van 6 juli 2021



het medisch product maximaal $1 \cdot 10^{12}$ virusdeeltjes aanwezig zijn, aangevuld.

Zienswijze 3

De VOV met residuale deeltjes is alleen te gebruiken bij 3e generatie SIN-lentivirale systemen. Bij de VOV zonder residuale deeltjes mogen er zowel lentivirale deeltjes van 2e en 3e generatie SIN-lentivirale systemen gebruikt worden. Wat is de rationale om 2e generatie SIN lentivirale systemen uit te sluiten bij deze nieuwe VOV met residuale deeltjes. Ons inziens zijn zowel 2e als 3e generatie SIN-lentivirale systemen veilig in het gebruik voor klinische toepassingen. Dit is in dit voorontwerp ook gebeurd bij ingeperkt gebruik, waar zowel 2e als 3e generatie SIN-lentivirale systemen op ML-I gebruikt kunnen gaan worden. Dit geeft aan dat de veiligheid van beide systemen identiek wordt geacht, mits uiteraard aan de voorwaarden wordt voldaan, zoals opgenomen in het nieuwe artikel 5.9.2. wat overeenkomt met de artikelen C5.3 en D5.2.

Reactie

Zoals hiervoor reeds is aangegeven, is het uitgangspunt voor de Europese Interplay afspraken dat voor iedere toepassing individueel een aanvraag met bijbehorende casusspecifieke milieurisicobeoordeling ingediend moet worden. Een uitgangspunt dat ongeschikt is als basis voor het opstellen van een VOV. Bij de verdere inperking van de Europese Interplay afspraken is onder meer gebruik gemaakt van de randvoorwaarden uit bijlage A bij het COGEM-advies CGM/201214-02: *'Het generieke advies voor klinische studies met ex vivo... ..lentiviraal getransduceerde cellen is van toepassing wanneer gebruik gemaakt wordt van... .. zelf-inactiverende (SIN) vectoren afgeleid van Human immunodeficiency virus 1 (HIV-1), welke zijn geproduceerd met behulp van een 3e generatie productiesysteem.'* Deze geadviseerde randvoorwaarden zijn overgenomen.

Gezien de geheel andere aard van de risicobeoordelingen voor ingeperkt gebruik en introductie in het milieu, kunnen inschalingen voor ingeperkt gebruik niet (zonder meer) worden toegepast op vergunningvoorwaarden bij de introductie in het milieu van ggo's.

Vanwege deze bekendmaking met het oog op inspraak is afgezien van internetconsultatie¹⁵.

De ontwerpregeling is aan het Adviescollege Toetsing Regeldruk (ATR) voorgelegd. Het Adviescollege toetsing regeldruk (ATR) heeft het dossier niet geselecteerd voor een formeel advies, omdat het naar verwachting geen omvangrijke gevolgen voor de regeldruk heeft.

Inwerkingtreding

Overeenkomstig het stelsel van vaste verandermomenten, treedt deze wijzigingsregeling in werking met ingang van 1 oktober 2021. Er wordt afgeweken van de invoeringstermijn van ten minste twee maanden. In dit geval is het gerechtvaardigd omdat dit, gelet op de doelgroep, aanmerkelijke ongewenste private nadelen voorkomt (aanwijzing 4.17, vijfde lid, onderdeel a, van de Aanwijzingen voor de regelgeving). Met het voorkomen van private nadelen wordt bedoeld dat ieder lid van de doelgroep in staat moet worden gesteld zo spoedig mogelijk gebruik te maken van de aangepaste bijlagen zodat overbodige procedures van individuele besluiten, zoals hierboven beschreven onder 'Belang en gevolgen van de aanpassingen', worden voorkomen.

*De Minister van Infrastructuur en Waterstaat,
B. Visser*

¹⁵ Kamerstukken II 2009/10, 29 279, nr. 114, blz. 2.



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

Gestandaardiseerde milieurisicobeoordeling voor humane cellen genetisch gemodificeerd met virale vectoren afgeleid van humaan immunodeficiëntievirus 1 en gepseudotypeerd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G), waarbij geen risico bestaat op de vorming van replicatiecompetent virus en waarbij residuele infectieuze SIN lentivirale partikels in het medisch product aanwezig kunnen 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

De lentivirale vector is gebaseerd op humaan immunodeficiëntievirus 1 (HIV-1). 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 *vpu*. 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 gastheercel 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 lentivirale vector te complementeren. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties.

1.3 Het ggo

Constructie van de virale vector

De gebruikte virale vector is een derde generatie lentivirale vector gebaseerd op HIV-1. De LTR's in het virale vectorgenoom dienen zelf-inactiverend (SIN) te zijn. De gebruikte productiecellen zijn vrij van HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2 en andere relevante lentivirussen die kunnen leiden tot complementatie dan wel recombinatie van de lentivirale vector. De virale vector is gepseudotypeerd met Vesicular stomatitis virus glycoproteïne (VSV-G).

Constructie van de genetisch gemodificeerde cellen

Voor de constructie van de genetisch gemodificeerde cellen is een 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* 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.

Er kunnen als restant van het productieproces residuele infectieuze virusdeeltjes aanwezig zijn in het toe te dienen medisch product. Deze residuele virusdeeltjes zijn replicatiedeficiënt en zullen in het lichaam van de proefpersoon worden afgebroken. De residuele virusdeeltjes kunnen vanuit de proefpersoon verspreiden naar derden via bloed-bloed contact of contacttransmissie (bijvoorbeeld



door het met besmette handen aanraken van de slijmvliezen van oog, neus of mond).

1.4 Werkzaamheden

Productie

De productie van de genetisch gemodificeerde lentivirale partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen maakt geen onderdeel uit van de aanvraag. De genetisch gemodificeerde 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 residuele infectieuze lentivirale partikels aanwezig kunnen zijn in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend. Met het medisch product wordt hierna derhalve gedoeld op de genetisch gemodificeerde humane cellen, inclusief mogelijk aanwezige residuele infectieuze lentivirale partikels. In het medisch product zijn maximaal 10^{12} residuele infectieuze lentivirale partikels aanwezig. Er is geen replicatiecompetent lentivirus aanwezig in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend.

Transport

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

Opslag

Het medisch product wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang. Monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

Preparatie en toediening

Preparatie en toediening van het medisch product vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

Monsterafname en verwerking

Afnemen van monsters van de proefpersonen die het medisch product kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

Afvalverwerking en besmet materiaal

Afval dat het medisch product bevat dan wel in aanraking is geweest met het medisch product 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 het medisch product 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 getransduceerde cellen kunnen buiten de gastheer (de proefpersoon) niet overleven. In de getransduceerde cellen is de virale vector stabiel geïntegreerd. De residuele virusdeeltjes kunnen gedurende beperkte tijd in de gastheer (de proefpersoon) infectieus blijven. Vanuit de proefpersoon kunnen deze deeltjes naar derden worden verspreid via bloed-bloed contact of contacttransmissie.

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

Het medisch product

Het ggo bestaat uit humane cellen welke getransduceerd zijn met een replicatiedeficiënte lentivirale vector. Er kunnen residuele infectieuze virusdeeltjes aanwezig zijn in het toe te dienen medisch product.

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. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties, waardoor mogelijke schadelijke effecten die zouden kunnen optreden door expressie van de genproducten zoals aanwezig in de expressiecassette niet worden verwacht.

Schadelijke effecten gerelateerd aan recombinatie met of complementatie van virale sequenties uit het geïntegreerde construct dan wel de residuele deeltjes

Het virale vectorgenoom kan in theorie recombineren indien een lentivirus in dezelfde cel aanwezig is als het vectorgenoom. 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 het virale vectorgenoom kunnen in theorie gecompenseerd worden indien een lentivirus in dezelfde cel aanwezig is als het vectorgenoom. 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.

Schadelijke effecten gerelateerd aan residuele lentivirale deeltjes

Indien residuele, infectieuze virusdeeltjes een gastheercel van een derde of niet-doelwitorganisme transduceren zal de virale vector in het gastheergenoom integreren. Hierdoor bestaat de kans op ontregeling van genen betrokken bij proliferatie waardoor tumoren kunnen ontstaan. De expressiecassette bevat geen schadelijke sequenties, waardoor mogelijke schadelijke effecten die zouden kunnen optreden door expressie van de genproducten zoals aanwezig in de expressiecassette niet worden verwacht.

Kiambaantransmissie

Residuele infectieuze deeltjes kunnen zich in het lichaam van de proefpersoon verspreiden en kunnen in theorie kiembaancellen transduceren. Na transductie van een kiembaancel kan de virale vector in het gastheergenoom integreren. Mogelijke schadelijke effecten die dientengevolge 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 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 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 immuungecompromitteerd 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 geacht.

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

Waarschijnlijkheid van de kans op mobilisatie van of recombinatie met de virale vector dan wel het geïntegreerde construct met andere virussen

Wanneer co-infectie optreedt van dezelfde gastheercel kan complementatie optreden, waarbij het geïntegreerde vectorgenoom gemobiliseerd kan worden. Aangezien de vector voorzien is van een SIN-deletie in de LTR, wordt de kans op mobilisatie na integratie in het genoom van de gastheercel aanzienlijk verminderd. Ook zou bij co-infectie met HIV recombinatie kunnen optreden met de vector, waarbij theoretisch een recombinant HIV kan ontstaan. Het is zeer onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde cellen recombinatie optreedt tussen de lentivirale vector en humane lentivirussen 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. Voor zowel mobilisatie (door complementatie) als recombinatie dient de lentivirale vector dezelfde cel te infecteren als HIV. Daarnaast zal eventuele recombinatie meestal resulteren in een slecht replicerend, of zelfs replicatiedeficient virus, aangezien opname van vectorsequenties in HIV zeer waarschijnlijk de expressie van de virale genen zal verstoren en een negatief effect zal hebben op het inpakken van het virale genoom in virusdeeltjes door het toenemen van de genoomgrootte. Verder wordt bij HIV-geïnfekteerden antiretrovirale therapie toegepast, hetgeen niet alleen het HIV remt, maar ook een eventuele infectie met de lentivirale vector en daarmee de kans op mobilisatie en recombinatie nog verder verkleint. 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, en dat hieruit schadelijke effecten voortvloeien is op grond van de bovenstaande overwegingen verwaarloosbaar.

Waarschijnlijkheid van de kans op schadelijke effecten gerelateerd aan residuele lentivirale virusdeeltjes

Residuele virusdeeltjes kunnen gedurende beperkte tijd in de gastheer (de proefpersoon) infectieus blijven. Vanuit de proefpersoon kunnen deze deeltjes naar derden worden verspreid via bloed-bloed contact of contacttransmissie, waarbij de kans op transmissie van virusdeeltjes naar derden het grootst wordt geacht bij contact met bloed van de proefpersoon.

Voor VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectordeeltjes wordt aangenomen dat in de proefpersoon de reductiefactor per uur in het minst gunstige geval 6 bedraagt. Indien wordt uitgegaan van een maximaal aantal van 10^{12} virusdeeltjes in het medisch product, zal het volgens theoretische berekeningen 12 uur duren alvorens het aantal deeltjes de grenswaarde van 0,01 vectordeeltje bereikt (voor



een uitgebreide berekening en onderbouwing zie COGEM advies CGM/200507-01). Uit voorzichtigheidsoverwegingen wordt aangenomen dat na 16 uur de kans op overdracht van virusdeeltjes vanuit de proefpersoon verwaarloosbaar is.

Waarschijnlijkheid van kiembaantransmissie

De hoeveelheid residuele deeltjes aanwezig in proefpersonen die behandeld worden met *ex vivo* getransduceerde cellen vervaardigd met lentivirale vectordeeltjes zal met de tijd afnemen ten gevolge van biologisch verval, inactivatie en afbraak in het lichaam van de proefpersoon. Studies bij muizen, waaraan VSV-G gepseudotyperde lentivirale vectordeeltjes intraveneus waren toegediend hebben laten zien dat de vectordeeltjes niet via de kiembaan worden overgedragen. Op basis van bovenstaande wordt de kans dat kiembaantransmissie optreedt verwaarloosbaar geacht.

2.5 Schatting van het algehele risico van het ggo

In de bovenstaande overwegingen wordt geconcludeerd dat de risico's voor de mens en het milieu bij toepassing van de genetisch gemodificeerde cellen verwaarloosbaar zijn. Schadelijke effecten van residuele lentivirale virusdeeltjes die via bloed-bloedcontact of contacttransmissie naar derden kunnen worden overgedragen kunnen niet volledig worden uitgesloten.

2.6 Maatregelen voor risicobeheer

Op basis van het bovenstaande worden, ten einde de overdracht van residuele lentivirale virusdeeltjes naar derden te beperken, de volgende risicobeheersmaatregelen opgelegd:

- na toediening van het medisch product blijft de proefpersoon minimaal 16 uur in het ziekenhuis opgenomen, zodat de standaard ziekenhuishygiënische maatregelen in acht genomen kunnen worden;
- na toediening van het medisch product wordt de infuusinsteekplaats met een adequate methode gedesinfecteerd om resterende virusdeeltjes te inactiveren, en worden standaard ziekenhuishygiënische maatregelen tijdens de verzorging van de proefpersoon in acht genomen;
- proefpersoon, medisch personeel en bezoekers worden voorgelicht hoe de eerste 16 uur na toediening van het medisch product er ten aanzien van wondverzorging en besmet materiaal moet worden omgegaan.

Met inachtneming van deze risicobeheersmaatregelen wordt het algehele milieurisico van de toepassing van het ggo verwaarloosbaar.

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, 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 de genetisch gemodificeerde cellen in natuurlijke habitats persistent en invasief worden is verwaarloosbaar.

De kans dat residuele infectieuze deeltjes die mogelijk aanwezig zijn ten tijde van toediening persistent en invasief worden is verwaarloosbaar. Het betreft immers replicatiedeficiënte lentivirale virusdeeltjes. Een virusdeeltje kan slechts éénmaal een cel infecteren, waardoor het effect uitdovend zal zijn.

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. 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. De



residuele infectieuze virusdeeltjes die mogelijk aanwezig zijn ten tijde van toediening zijn replicatiedeficiënt. Het virusdeeltje kan slechts éénmaal een cel infecteren, waardoor het effect uitdovend zal zijn. Derhalve zijn de risico's van selectieve voordelen of nadelen die op het ggo zijn overgedragen verwaarloosbaar.

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. In het medisch product kunnen replicatiedeficiënte virusdeeltjes aanwezig zijn. Er is echter geen 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, en dat hieruit schadelijke effecten voortvloeien is verwaarloosbaar.

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 de gemodificeerde cellen en het milieu anders dan mensen. Mogelijke gevolgen zijn daarom niet aan de orde in geval van cellen. De residuele infectieuze virusdeeltjes die mogelijk aanwezig zijn ten tijde van toediening zijn replicatiedeficiënt. Deze deeltjes kunnen enkel via bloed-bloed contact of contacttransmissie naar niet-doelwitorganismen worden overgedragen. Dat is gezien de gecontroleerde ziekenhuissetting waarin de werkzaamheden plaatsvinden 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 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.

Schadelijke effecten van residuele lentivirale virusdeeltjes die via bloed-bloedcontact of contacttransmissie naar derden kunnen worden overgedragen kunnen niet volledig worden uitgesloten. De kans hierop is beperkt door de voorgeschreven risicobeheersmaatregelen. Met inachtneming van deze risicobeheersmaatregelen is de kans dat derden geïnfecteerd raken met residuele lentivirale partikels én dat daardoor een schadelijk effect kan optreden verwaarloosbaar.

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 de gemodificeerde cellen en het milieu anders dan mensen. Residuele virusdeeltjes zullen, zoals kenmerkend is voor virussen, buiten een gastheer geen activiteit vertonen. 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.



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 Adeno-associated dependoparvovirus A of B zonder schadelijke sequenties.

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

1.1 Het uitgangsgo

Humane cellen

De humane cellen zijn afkomstig van de proefpersoon zelf (autoloog) dan wel van een donor (allogeen).

Adeno-associated dependoparvovirus A of B

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 wefelseltopisme.

1.2 De modificatie

AAV *rep* en *cap* zijn in de virale vector 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.

Constructie van de genetisch gemodificeerde cellen

Voor de constructie van de genetisch gemodificeerde cellen is een replicatiedeficiënte AAV vector gebruikt. Het vectordeeltje kan slechts éénmaal een cel infecteren, waardoor het effect uitdovend zal zijn. Met de vectordeeltjes worden cellen van de proefpersoon dan wel de donor *ex vivo* getransduceerd. Het virale genoom zal voornamelijk episomaal in de cel aanwezig zijn, maar kan ook integreren in het gastheergenoom.

Virulentie en stabiliteit van het ggo

Het ggo bestaat uit *ex vivo* 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.

Er kunnen als restant van het productieproces residuele infectieuze vectordeeltjes aanwezig zijn in het toe te dienen medisch product. Deze vectordeeltjes kunnen via shedding vanuit de proefpersoon in het milieu terechtkomen en verspreiden naar derden. Deze residuele vectordeeltjes zijn 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 vectordeeltje 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 deze vectordeeltjes, evenals wildtype AAV, een hoge stabiliteit hebben buiten de gastheer.

1.4 Werkzaamheden

Productie

De productie van de genetisch gemodificeerde AAV partikels en de genetisch gemodificeerde humane cellen maakt geen onderdeel uit van de aanvraag. De genetisch gemodificeerde AAV 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 infectieus helpervirus aanwezig is in het medisch product dat aan de proefpersoon wordt toegediend. Er kunnen residuele infectieuze AAV partikels aanwezig zijn in het medisch product. Met het medisch product wordt hierna gedoeld op de genetisch gemodificeerde humane cellen, inclusief mogelijk aanwezige residuele infectieuze AAV partikels.

Transport

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

Opslag

Het medisch product wordt opgeslagen in een gesloten, breukvaste, lekdichte dubbele houder in een ruimte met beperkte toegang. Monsters afkomstig van de proefpersonen die het medisch product kunnen bevatten, worden opgeslagen conform de opslag van reguliere patiëntenmonsters.

Preparatie en toediening

Preparatie en toediening van het medisch product vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

Monsterafname en verwerking

Afnemen van monsters van de proefpersonen die het medisch product kunnen bevatten en verwerking van die monsters vinden plaats conform standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

Afvalverwerking en besmet materiaal

Afval dat het medisch product bevat dan wel in aanraking is geweest met het medisch product 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 het medisch product kunnen bevatten, wordt afgevoerd als specifiek ziekenhuisafval dan wel als afval dat ggo's bevat.

Niet wegwerpbaar materiaal 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 het virale genoom voornamelijk episomaal in de cel aanwezig, maar dit kan ook integreren in het gastheergenoom. Mogelijk aanwezige residuele AAV vectordeeltjes zijn replicatiedeficiënt en een vectordeeltje kan een cel slechts éénmaal infecteren. Verspreiding van deze



vectordeeltjes in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden tijdens de toediening en kort nadat het medisch product aan de proefpersoon is toegediend. Hierdoor kunnen derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld worden aan deze vectordeeltjes en kan een infectie van derden en niet-doelwitorganismen niet worden uitgesloten. Indien vectordeeltjes aanwezig zijn in het medisch product, dan zal de hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Aangezien deze vectordeeltjes niet in staat zijn 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 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

Het medisch product

Het ggo bestaat uit humane cellen welke getransduceerd zijn met een replicatiedeficiënte virale vector afgeleid van AAV zonder schadelijke sequenties. Er kunnen residuele infectieuze AAV vectordeeltjes aanwezig zijn in het toe te dienen medisch product.

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 kan de beoogde sequentie 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. Aangezien de beoogde expressiecassette geen schadelijke sequenties bevat, worden geen schadelijke effecten verwacht.

Schadelijke effecten gerelateerd aan de persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van mogelijk aanwezige residuele AAV vectordeeltjes

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 de toegepaste vector 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

Het virale vectorgenoom kan in theorie recombineren indien wildtype AAV en een helpervirus in dezelfde cel aanwezig zijn als het vectorgenoom. Recombinatie kan een hybride sequentie met van AAV afkomstige *rep* en *cap* sequenties en de expressiecassette opleveren. De maximale packagingca-



paciteit 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 de toegepaste vector. 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 de toegepaste vector.

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

Schadelijke effecten gerelateerd aan niet-vector gerelateerde sequenties in mogelijk aanwezige residuele virale partikels

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

Schadelijke effecten gerelateerd aan insertionele mutagenese van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes

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 van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes

Na transductie van een kiembaancel kan de virale vector in het gastheergenoem integreren. Mogelijke schadelijke effecten die dientengevolge zouden kunnen optreden zullen afhankelijk zijn van het virale vectorgenoem en de plaats van integratie in het gastheergenoem.

2.4 Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijke effect

Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan de 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 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 geacht.

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



Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van mogelijk aanwezige residuele AAV vectordeeltjes zullen optreden

Verspreiding van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden tijdens de toediening en kort nadat het medisch product aan de proefpersoon is toegediend. Hierdoor kunnen derden en niet-doelwitorganismen blootgesteld worden aan deze virusdeeltjes en kan een infectie van derden en niet-doelwitorganismen niet worden uitgesloten. Aangezien de beoogde virale vector niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die mogelijk residueel in het medisch product aanwezig is en tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten door deze vectordeeltjes verkleind ten opzichte van de situatie in de proefpersoon.

Bovendien zullen deze vectordeeltjes na toediening van het medisch product 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.

Geconcludeerd wordt dat de waarschijnlijkheid van het optreden van mogelijke schadelijke effecten gerelateerd aan persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes klein is.

Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan recombinatie met of complementatie van virale sequenties in het vectorgenoom zullen optreden

Het is onwaarschijnlijk dat in de getransduceerde cellen complementatie optreedt van de AAV vector dan wel dat er recombinatie optreedt tussen de AAV vector sequenties en wildtype AAV dat mogelijk in de cellen aanwezig kan zijn, aangezien hiervoor de toegepaste vector 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 mogelijk aanwezige residuele virale partikels zullen optreden

Ook voor de mogelijke 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. Indien vectordeeltjes aanwezig zijn in het medisch product, dan zal de hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten door deze vectordeeltjes 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 mogelijk aanwezige virale partikels zullen optreden verwaarloosbaar is.

Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan insertionele mutagenese van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes 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 mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes gevolgd door een eventuele infectie kan niet worden uitgesloten. Echter, indien vectordeeltjes aanwezig zijn in het medisch product, dan zal de hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. Hierdoor is de kans op negatieve effecten door deze vectordeeltjes verkleind ten opzichte van de situatie in de proefpersoon. Aangezien de beoogde vector 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 is.

Waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten gerelateerd aan kiembaantransmissie van mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes 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 episomaal aanwezig, waardoor deze niet persisteren 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 is.

2.5 Schatting van het algehele risico van het ggo

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

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, 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 de genetisch gemodificeerde cellen in natuurlijke habitats persistent en invasief worden is verwaarloosbaar.

De kans dat residuele infectieuze deeltjes die mogelijk aanwezig zijn ten tijde van toediening persistent en invasief worden is verwaarloosbaar. Het betreft immers replicatiedeficiënte vectordeeltjes. 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 een AAV vectordeeltje bevat en tegelijkertijd ook geïnfecteerd is met wildtype AAV én een helpervirus. De mogelijk ontstane virusdeeltjes bij complementatie zijn qua eigenschappen identiek aan de toegepaste vector en zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn. Derhalve is de kans verwaarloosbaar dat residuele AAV vectordeeltjes 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)

De waarschijnlijkheid van een verhoogd selectief voordeel bij toepassing van het ggo is verwaarloosbaar. 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.

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 de toegepaste vector bevat en tegelijkertijd ook geïnfecteerd is met wildtype AAV én een helpervirus. De mogelijk ontstane virusdeeltjes bij complementatie zijn qua eigenschappen identiek aan de toegepaste vector 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 de genetisch gemodificeerde AAV vector zijn overgedragen verwaarloosbaar.

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 de AAV vector 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 de genetisch gemodificeerde AAV vector met wildtype AAV zijn geen gevolgen verbonden, omdat de erbij ontstane virussen qua eigenschappen identiek zijn aan de toegepaste AAV vector 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.

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, gasteren, symbionten, predatoren, parasieten en ziekteverwekkers

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

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, zullen mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes slechts tijdelijk vanuit de proefpersoon in het milieu terecht kunnen komen. Indien vectordeeltjes aanwezig zijn in het medisch product, dan zal de hoeveelheid vrijgekomen residuele vectordeeltjes vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. De kans dat niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar.



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 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.

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, zullen mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes slechts tijdelijk vanuit de proefpersoon in het milieu terecht kunnen komen. Indien vectordeeltjes aanwezig zijn in het medisch product, dan zal de hoeveelheid vrijgekomen residuele vectordeeltjes vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheid die tijdens de behandeling aan de proefpersoon wordt toegediend. De kans dat derden geïnfecteerd raken met mogelijk aanwezige residuele vectordeeltjes en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar.

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 de gemodificeerde cellen en het milieu anders dan mensen. Residuele virusdeeltjes zullen, zoals kenmerkend is voor virussen, buiten een gastheer geen activiteit vertonen. 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.