



# ontwerp beschikking

PorM/RB IM 09-004

Gelezen de aanvraag van Intervet International B.V., te Boxmeer, van 26-10-2009, kenmerk:EJ1009, en de aanvullende informatie van 07-12-2009, 11-01-2010, 26-01-2010, 03-03-2010, 08-03-2010, en van 19-05-2010, om een vergunning als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (Stb. 1993, 435),

De Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer,

overwegende,

## 1. AANVRAAG<sup>1</sup>

De aanvraag heeft betrekking op een veterinaire studie waarin een genetisch gemodificeerde bacterie, *Rhodococcus equi*, wordt toegediend aan veulens voor vaccinatie tegen een *R. equi* infectie. De werkzaamheden zijn voorgenomen plaats te vinden in de gemeente Sint Anthonis.

Een infectie met de *R. equi* bacterie kan in veulens een chronische longontsteking veroorzaken die in veel gevallen leidt tot de dood van de veulens. Het genetisch gemodificeerde organisme (GGO) is de stam *R. equi* RG2837, waaruit een viertal genen verwijderd zijn die een rol spelen bij het infecteren en groeien in macrofagen. De recombinante vaccinstam is niet meer in staat om te overleven in macrofagen en is niet meer in staat om ziekte te veroorzaken. De betreffende genen zijn met behulp van recombinant DNA technologie verwijderd op een wijze waarbij schone deleties aangebracht worden. Dit houdt in dat er geen 'vreemde' sequenties in het genoom van het GGO achterblijven die gebruikt zijn tijdens de constructie van het GGO.

De recombinant *R. equi* zal oraal en/of rectaal aan veulens worden toegediend. In het lichaam vindt vervolgens interactie plaats met het immuunsysteem. Als gevolg hiervan wordt er immuniteit opgebouwd die de veulens beschermt tegen infectie met wildtype *R. equi*. Het uiteindelijke doel van de studie is het ontwikkelen van een vaccin tegen *R. equi* pneumonie in veulens.

---

<sup>1</sup>Voor definities van gebruikte begrippen zie artikel 1 van de vergunning.



## **2. BEOORDELINGSKADER**

### **2.1. Wettelijk kader**

Het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (hierna: het Besluit ggo) vormt het beoordelingskader voor aanvragen om een vergunning als bedoeld in artikel 23, 1<sup>e</sup> lid van dit besluit, voor de introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen. In het Besluit ggo is de Richtlijn 2001/18/EG inzake “*de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van Richtlijn nr. 90/220/EEG*” (hierna: Richtlijn) geïmplementeerd. Op basis van het besluit moet een ieder die activiteiten wil gaan uitvoeren met genetisch gemodificeerde organismen (hierna: GGO's) die vallen onder introductie in het milieu vooraf een aanvraag indienen waarin een milieurisicoanalyse wordt uitgevoerd van de voorgestelde activiteiten. De uitkomst van de analyse van de mogelijke risico's voor mens en milieu is het toetsingscriterium voor het bevoegd gezag dat de aanvraag beoordeelt. Overeenkomstig artikel 9.2.2.3, tweede lid, Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

### **2.2. De aanvraag en beoordeling**

De aanvraag moet conform artikel 24, eerste lid Besluit ggo de informatie bevatten als bedoeld in bijlage III, in het bijzonder bijlage IIIA, bij de Richtlijn die nodig is om een milieurisicoanalyse uit te voeren. Daarnaast moet de aanvraag een milieurisicoanalyse bevatten overeenkomstig bijlage II bij de Richtlijn en de bijbehorende Richtsnoer (2002/623/EG). Bij de beoordeling van een aanvraag en de afgifte van een vergunning, kan de Minister advies vragen aan de Commissie Genetische Modificatie (hierna: COGEM) over de risico's voor mens en milieu die aan de voorgenomen handelingen met GGO's verbonden kunnen zijn. Na de milieurisicoanalyse kan de Minister bij grote mate van wetenschappelijke onzekerheid met betrekking tot de geïdentificeerde risico's, op basis van het voorzorgsbeginsel extra maatregelen aan de beschikking verbinden. Naarmate meer kennis is verkregen over het GGO en de toepassing van het GGO kan eventueel worden overgegaan tot het beperken van de inperkende voorschriften (het stap voor stap principe). De wijze waarop het voorzorgsbeginsel bij de uitvoering van de het Besluit ggo wordt gehanteerd, staat beschreven in de Mededeling van de Europese Commissie over het voorzorgsbeginsel (COM(2000) 1 definitief).

Een aantal van de bovengenoemde begrippen zijn van essentieel belang en behoeven voor een juist begrip een nadere toelichting.

### **2.3. De milieurisicoanalyse**

Bij de milieurisicoanalyse moeten alle mogelijke schadelijke effecten van geïdentificeerde kenmerken van het GGO en het gebruik daarvan, worden vergeleken met die van het ongemodificeerde organisme waaruit het GGO is afgeleid en het gebruik daarvan in vergelijkbare situaties. De milieurisicoanalyse moet daarnaast per geval worden uitgevoerd, wat betekent dat de vereiste informatie kan verschillen afhankelijk van het type van het betrokken GGO, het voorgenomen gebruik ervan en de potentiële introductie in het milieu.

Een dergelijke milieurisicoanalyse is gebaseerd op een analyse en beschouwing van de eigenschappen van het genetisch gemodificeerde organisme en de wijze waarop het GGO wordt toegepast. Daarbij staan twee vragen centraal: 1. Zijn er redenen om aan te nemen dat het genetisch gemodificeerde organisme of zijn nakomelingen vanwege de genetische modificatie schadelijk zal zijn voor mens of milieu? 2. Kan het ingebrachte genetische materiaal van het genetisch gemodificeerde organisme worden overgedragen naar andere organismen, en zijn er redenen om aan te nemen dat die als een resultaat daarvan schadelijk zullen zijn voor mens of milieu?

Deze vragen zijn niet in hun algemeenheid te beantwoorden. Daarom is in de milieurisicoanalyse en de daarop volgende milieurisicobeoordeling een gedetailleerde structuur aangebracht op basis van Bijlage II van de Richtlijn. De gegevens waarop de milieurisicoanalyse is gebaseerd, staan vermeld in Bijlage IIIA van diezelfde richtlijn. De milieurisicoanalyse moet opheldering geven over de aard van de eventuele schadelijke effecten op mens of milieu die worden verwacht als gevolg van de voorgenomen handelingen en een aanduiding van de wijze waarop die effecten zouden kunnen optreden, in vergelijking tot het gehanteerde referentiekader. Hierbij worden zowel directe, indirecte, vertraagde en cumulatieve effecten in beschouwing genomen. Daarbij gaat het niet om het opstellen van een wetenschappelijke verhandeling, maar om een redelijke onderbouwing of bepaalde effecten kunnen optreden.

### **2.4. Stap voor stap principe**

Overweging 24 van de Richtlijn stelt dat “de introductie van GGO's in het milieu stapsgewijs dient plaats te vinden”. Het stap voor stap principe is één van de invullingen van het voorzorgsbeginsel. Het stap voor stap



principe is bedoeld om tijdens de ontwikkeling van GGO's om te kunnen gaan met (a) de mate van onzekerheid die verbonden is aan de milieurisicoanalyse en (b) mogelijke onvoorziene effecten van het GGO. Tijdens het doorlopen van opeenvolgende stappen in het ontwikkelingsproces komt meer informatie beschikbaar en nemen de onzekerheden in de milieurisicoanalyse af. Onzekerheden kunnen leiden tot het verbinden van extra voorschriften aan de vergunning. Daarna kan bij afnemende onzekerheid en als de milieurisicoanalyse dit toelaat, het aantal voorschriften ter inperking van het risico verminderd worden.

## **2.5. Voorzorgsbeginsel**

In het geval dat er onvoldoende wetenschappelijke zekerheid bestaat met betrekking tot de uitkomst van de milieurisicoanalyse en een worst case scenario conform het voorzichtigheidsbeginsel hiervoor geen oplossing biedt, kunnen op basis van het voorzorgsbeginsel extra maatregelen door de Minister worden opgelegd. Daarbij staat voorop dat de maatregelen proportioneel dienen te zijn ten opzichte van het risico dat is gesignaleerd en het gewenste veiligheidsniveau. Het voorzorgsbeginsel heeft in het kader van het Besluit ggo met name daar zijn functie waar onzekerheden worden aangetroffen die nieuw zijn in vergelijking met de maatschappelijk reeds geaccepteerde risico's. Indien het vermoeden bestaat dat er potentieel schadelijke effecten op kunnen treden die van de gangbare praktijk afwijken kan het voorzorgsbeginsel worden gehanteerd en de werkzaamheden (a) worden ingeperkt met passende aanvullende voorschriften of (b) worden geweigerd.

## **3. PROCEDURE**

De aanvraag is ontvangen d.d. 30-10-2009. De aanvraag en de aanvullende informatie zijn getoetst aan de vereisten zoals genoemd in artikel 24 van het Besluit ggo en voldoet daaraan.

De aanvraag is behandeld conform het bepaalde in de uniforme openbare voorbereidingsprocedure in afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht, afdeling 13.2 van de Wet milieubeheer en artikel 24 van het Besluit ggo.

Tussen de ministeries betrokken bij de vergunningverlening van genetisch gemodificeerde organismen met betrekking tot risico's voor mens en milieu, het ministerie van VROM, LNV en VWS, zijn procedurele afspraken gemaakt over het tijdstip van advisering door de COGEM. Deze afspraak houdt in dat advisering door de COGEM over de mogelijke risico's voor mens en milieu van de aangevraagde werkzaamheden zal plaatsvinden op basis van de aanvraag.

## **4. KENMERKEN VAN DE IN DEZE AANVRAAG GEBRUIKTE GGO'S EN HUN INTRODUCTIE**

Conform Bijlage II van de Richtlijn moet bij de milieurisicoanalyse rekening gehouden worden met de relevante technische en wetenschappelijke details betreffende de informatievereisten zoals genoemd in Bijlage III en in het bijzonder Bijlage IIIA. Een samenvatting van deze gegevens van Bijlage IIIA, zoals die door de aanvrager in zijn aanvraag zijn aangeleverd, is hieronder weergegeven.

### **4.1. Gastheerorganisme (*Rhodococcus equi*)**

*Algemeen:*

*Rhodococcus equi* is een pathogene bacterie die wereldwijd in de bodem voorkomt. *R. equi* is ingedeeld in pathogeniteitsklasse 2. De bacterie is in staat een chronische longontsteking (fatale pyogranulomateuze pneumonie) te veroorzaken vooral in veulens tussen 4 en 12 weken. Dit ziektebeeld gaat meestal gepaard met een zwerende dikke darm ontsteking. Veulens worden doorgaans één tot drie weken na infectie ziek. In gemiddeld 60% van de gevallen leidt de ziekte tot de dood van de veulens. Veulens worden geïnfecteerd door het inhaleren van stofdeeltjes besmet met *R. equi* tijdens bijvoorbeeld het grazen. Buiten de gastheer kan *R. equi* lange tijd in de bodem en mest overleven.

*Infectie, replicatie en uitscheiding*

*R. equi* wordt in de longen opgenomen door macrofagen, waarin de bacterie kan overleven en vermenigvuldigen. Ziekteverwekkende *R. equi* bacteriestammen bezitten een 80-90 kb virulentieplasmide. Dit plasmide bevat het gen voor virulentiefactor VapA en ook genen die coderen voor eiwitten die mogelijk een rol spelen bij conjugatie van plasmiden en replicatie. Het virulentieplasmide is daarnaast essentieel voor de inductie van immuniteit. *R. equi* komt voor in andere landbouwhuisdieren, anders dan paarden, maar veroorzaakt daar normaal gesproken geen ziekteverschijnselen. Deze stammen hebben een afwijkend gastheerspecifiek virulentieplasmide. De virulentieplasmiden sluiten elkaar uit door incompatibiliteitssystemen. Dit betekent dat in één zelfde stam geen twee virulentieplasmiden naast elkaar voor kunnen komen. In immuungecompromiteerde mensen (bijvoorbeeld AIDS patiënten) kan de *R. equi* bacterie eveneens pneumonie veroorzaken. *R. equi* infecties in mensen met een normaal functionerend



immuunsysteem zijn zeldzaam. Een infectie bij mensen kan echter adequaat behandeld worden met antibiotica.

#### **4.2. De deletie**

Uit de wildtype *R. equi* RG2837 stam zijn vier genen verwijderd om de recombinante vaccinstam te verkrijgen. De vier genen liggen in het *ipdAB* en *ipdAB2* operon op het chromosoom van *R. equi*. De genen *ipdA<sub>1</sub>*, *ipdA<sub>2</sub>*, *ipdB<sub>1</sub>* en *ipdB<sub>2</sub>* (*ipdA* en *ipdB* genen) liggen in de regio van het genoom dat codeert voor eiwitten die betrokken zijn bij de afbraak van cholesterol en andere steroïden. Op basis hiervan wordt verwacht dat de genen betrokken zijn bij een omzetting van een van de intermediairen in de afbraak van steroïden. De verwijderde genen spelen geen rol in de gastheerspecificiteit.

#### **4.3. Het GGO**

##### *Constructie*

Een vector met daarin operon-flankerende sequenties wordt in de *R. equi* RG2837 stam gebracht en het gehele plasmide recombineert in het operon van de bacterie. Bij deze recombinatie worden de operons *ipdAB* en *ipdAB2* bijna geheel verwijderd uit het genoom en vervangen door de vector sequenties. De ontstane recombinant bevat vectorsequenties coderend voor apramycine resistentie en 5-fluorocytosine gevoeligheid op de plaats van de vier verwijderde genen. Door vervolgens onder selectie op apramycine gevoeligheid en 5-fluorocytosine ongevoeligheid te kweken kunnen alleen die bacteriën geselecteerd worden die de vector sequenties niet meer in het genoom hebben. Deze techniek laat geen vectorsequenties zoals promotor, regulatoire of antibiotica resistenties coderende DNA sequenties, achter in het organisme. Op deze manier is er een 'schone' deletiemutant gecreëerd die geen 'vreemde' DNA sequenties in zijn genoom heeft. Het virulentieplasmide wordt niet verwijderd en is ook in de vaccinstam aanwezig.

##### *Virulentie en stabiliteit*

Het GGO mist vier genen wat tot gevolg heeft dat de *R. equi* deletiemutant niet meer kan overleven en vermenigvuldigen in macrofagen. Doordat er in de longen geen vermenigvuldiging in macrofagen optreedt zal de vaccinstam geen pneumonie en ziekte veroorzaken in veulens. De vaccinstam kan zich uiteindelijk niet handhaven in de longen en zal door het immuunsysteem worden opgeruimd. Gezien de toedieningswijze van het vaccin zal het GGO ook lokaal en tijdelijk in de darm aanwezig zijn. Vanuit gevaccineerde veulens kunnen lage hoeveelheden van de vaccinstam via bijvoorbeeld de feces in het milieu terechtkomen. Buiten de gastheer lijkt de vaccinstam niet geattenuëerd en zowel de vaccinstam als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven. De vaccinstam zal echter niet beter overleven dan wildtype *R. equi*.

#### **4.4. Beschrijving van het onderzoek**

Het onderzoek zal plaatsvinden in op conventionele bedrijven van Intervet in de gemeente Sint Anthonis. Er zullen in totaal maximaal 2000 veulens gevaccineerd worden. De *R. equi* deletiemutant wordt oraal en/of rectaal toegediend aan veulens die tussen drie dagen en zes maanden oud zijn. Er zal tot twee keer een dosis worden toegediend die varieert van  $10^8$  tot  $10^{10}$  CFU (kolonievormende eenheden). In geval van twee doseringen is er een interval van twee weken tussen de vaccinaties. Dieren worden gehouden in stallen of afgerasterde weilanden. Gedurende de proef komen de gevaccineerde veulens niet in aanraking met dieren die geen deel uitmaken van het experiment. De proefdieren blijven maximaal zes maanden in het experiment, waarna de dieren de proef kunnen verlaten zonder extra maatregelen.

#### **4.5. Productie, vervoer, bemonstering en afvalbehandeling**

##### *Productie*

Productie van het GGO vindt plaats onder vergunning IG 99-123. Kwaliteitscontrole van het product vindt plaats op onder andere restvocht, reinheid, levendtelling ( $>10^7$  CFU per batch) en door determinatie. Daarnaast vindt er een PCR test plaats ter bevestiging van de deletie en een PCR test ter bevestiging van de aanwezigheid van het virulentieplasmide.

##### *Monsternamen en analyse*

Monsternamen maakt deel uit van de onderhavige aanvraag en beschikking. Van de proefdieren worden bloed (serum) monsters afgenomen voor antilichaamtiteraties. Het is onwaarschijnlijk dat deze monsters GGO's bevatten omdat aangetoond is dat de vaccinstam niet in de bloedbaan terecht komt. Analyse van de monsters vindt plaats onder vergunning IG 99-123.

##### *Afval en besmet materiaal*

Afval zal voornamelijk bestaan uit paardenmest dat zal worden afgevoerd onder normale omstandigheden zoals die gelden in de paardenhouderij. Mest kan op het land worden uitgereden en er worden geen



maatregelen genomen om verspreiding van de vaccinstam tegen te gaan.

#### **4.6. Interactie met het milieu**

Het GGO dat in deze studie aan veulens toegediend wordt is gebaseerd op de wildtype *R. equi* RG2837 stam. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. De deletiemutant kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen, waardoor de vaccinstam zijn ziekteverwekkende vermogen verloren heeft. Een luchtweginfectie is een doodlopende weg voor het vaccin. Veulens worden gevaccineerd via een andere route (oraal of rectaal); vanuit gevaccineerde veulens kan tijdelijk lage hoeveelheden van de vaccinstam via de feces in het milieu terechtkomen. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd en zowel de vaccinstam als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven. De vaccinstam overleeft echter niet beter dan de uitgangsstam. Het is hierdoor aannemelijk dat het milieu blootgesteld wordt aan het GGO en dat mensen of dieren in aanraking kunnen komen met de recombinante vaccinstam.

### **5. MILIEURISICOANALYSE**

De milieurisicoanalyse 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. Deze technisch-wetenschappelijke milieurisicoanalyse is gedetailleerd beschreven in het werkdocument "Milieurisicoanalyse behorend bij aanvraag IM 09-004". Het werkdocument is openbaar en wordt ter inzage gelegd bij de (ontwerp)beschikking.

Bij de milieurisicoanalyse van de onderhavige aanvraag zijn alle punten van bijlage III van de Richtlijn beschouwd. Alleen de voor de onderhavige aanvraag relevante aspecten zijn daarna in de beoordeling betrokken. De technisch-wetenschappelijke milieurisicoanalyse is onder verantwoordelijkheid van het Ministerie van Volkshuisvesting Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer uitgevoerd. Bij de analyse van de mogelijke risico's is de methodiek gevolgd zoals beschreven in bijlage II van de Richtlijn en de bijbehorende Richtsnoer (2002/623/EG).

Hieronder is deze wetenschappelijk technische milieurisicoanalyse samengevat, waarbij alleen de voor de onderhavige aanvraag relevante aspecten zijn beschreven.

#### **5.1. Algemeen**

In de gebruikte *R. equi* deletiemutant zijn vier genen verwijderd. Het doel van de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam in de onderhavige aanvraag is om veulens tegen een *R. equi* infectie te vaccineren. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is de vaccinstam ten opzichte van wildtype *R. equi* sterk geattenuëerd in de gastheer. De deletiemutant kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen, waardoor het GGO zijn ziekteverwekkende vermogen verloren heeft. Het GGO kan tijdelijk door gevaccineerde veulens uitgescheiden worden en via de feces in het milieu terechtkomen. Het milieu zal hierdoor blootgesteld worden aan het GGO.

In de milieurisicoanalyse wordt beoordeeld of en hoe derden blootgesteld kunnen worden aan het GGO en of vervolgens infectie van derden op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als het milieu, waaronder mensen, dieren en micro-organismen, in aanraking komt met het GGO. Bij de beoordeling wordt uitgegaan van het feit dat het uitgangsgenotype wereldwijd in de bodem voorkomt en alleen pathogeen is voor jonge veulens. Oudere dieren zijn immuun tegen een infectie met *R. equi*. In de milieurisicobeoordeling dient er voorts rekening mee gehouden te worden dat het GGO in het milieu lange tijd zal overleven.

#### **5.2. Het GGO**

*Persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen*

*R. equi* is een bacterie die wereldwijd in de bodem voorkomt. De bacterie wordt in de longen van paarden opgenomen door macrofagen, waarin de bacterie kan overleven en vermenigvuldigen. Buiten de gastheer kan *R. equi* lange tijd in de bodem en mest overleven. Daarbij is de overlevingsduur afhankelijk van bijvoorbeeld de omgevingstemperatuur en de zuurgraad van de bodem. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd. Het GGO kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen van de gastheer. Hierdoor heeft de vaccinstam zijn ziekteverwekkende vermogen verloren, maar kan nog wel immuniteit opleveren tegen *R. equi*. De gastheerspecificiteit van het GGO is niet gewijzigd aangezien de verwijderde genen hierin geen rol spelen. De gastheerspecificiteit wordt immers bepaald door het nog aanwezige virulentieplasmide.



De vaccinstam wordt oraal en/of rectaal toegediend aan veulens. Hierdoor kan het GGO na toediening tijdelijk lokaal, namelijk in de darm van de veulens, aanwezig blijven. Het vaccin kan zich echter niet verspreiden naar andere organen en zal niet in de bloedbaan terechtkomen. Doordat de vaccinstam niet kan overleven en vermenigvuldigen in macrofagen kan het GGO zich niet handhaven in de longen. De genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam is na een korte tijd van ongeveer drie weken niet meer terug te vinden in de longen en andere organen van veulens die een dosis van  $4 \times 10^6$  cellen van de vaccinstam intratracheaal toegediend hadden gekregen. Een luchtweginfectie, mocht deze plaatsvinden, is een doodlopende weg voor het vaccin.

Vanuit gevaccineerde veulens kan tijdelijk lage hoeveelheden van de vaccinstam via de feces in het milieu terechtkomen. Uitscheiding via feces is bij ongeveer 25% van de dieren drie weken na vaccinatie nog in lage aantallen aangetoond. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd en zowel de vaccinstam als wildtype *R. equi* kunnen tenminste 6 maanden in het milieu (bodem, mest) overleven. Overlevingstesten in drinkwater, vijverwater en in de grond tonen aan dat de overleving van het GGO vergelijkbaar, maar niet beter, is met wildtype *R. equi*.

De verwijderde genen komen voor in verwante pathogene en niet-pathogene bacteriën (*Mycobacteria*, *Norcardia*, *Rhodococci*) waardoor het waarschijnlijk is dat het een voordeel is om deze genen te behouden. Er zijn geen verwante stammen in de natuur gevonden die deze genen missen. Er is blijkbaar geen evolutionair (selectief) voordeel om de genen uit *R. equi* te verwijderen.

#### *Genoverdracht en complementatie*

De verloren functies van het GGO kunnen in theorie worden teruggebracht door DNA uitwisseling met andere bacteriën die de ontbrekende genen in het genoom hebben. Een gevolg van genoverdracht is dat het GGO weer kan overleven en vermenigvuldigen in macrofagen en zodoende in de longen van jonge veulens pneumonie kan veroorzaken.

Het GGO is een 'schone' deletiemutant, dat wil zeggen dat er geen 'vreemde' DNA sequenties in het genoom achtergebleven zijn bij het creëren van de deletiemutant. De kans op uitwisseling van de deleties is zeer klein, aangezien het een chromosomale deletie betreft en nagenoeg het gehele operon verwijderd is. Daarbij dienen zowel de *ipdA* en *ipdB* genen te worden uitgewisseld. Eventuele homologe recombinatie tussen het GGO en wildtype *R. equi* zal alleen resulteren in reciproke uitwisseling. Aan een dergelijke uitwisseling is als enige gevolg verbonden dat er een stam ontstaat die identiek is aan de wildtype *R. equi* bacterie.

### **5.3. Mogelijk schadelijke effecten van het GGO en de evaluatie van de mogelijke gevolgen van deze effecten**

Wildtype *R. equi* is alleen ziekteverwekkend in paarden met een onvolwassen immuunsysteem. De bacterie komt voor in landbouwhuisdieren anders dan paarden, maar veroorzaakt daar normaal gesproken geen ziekte. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. De vaccinstam heeft zijn ziekteverwekkende vermogen verloren, maar kan wel immuniteit opwekken tegen *R. equi*.

Het GGO is niet in staat te overleven in macrofagen. Na oronasale toediening van verschillende dosis van het GGO aan muizen, ratten, kippen, varkens en kalveren werden geen nadelige klinische effecten waargenomen. Ook tijdens het post-mortem onderzoek drie weken na toediening werden geen klinische effecten gevonden. Daarbij kon de vaccinstam niet gedetecteerd worden in rectale swabs. In deze dieren treedt dus uitdoving van infectie met de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam op zonder nadelige effecten. Gezonde mensen worden zelden geïnfecteerd met wildtype *R. equi*, maar in mensen met een verzwakt afweersysteem kan de bacterie pneumonie veroorzaken. Onder laboratorium omstandigheden is aangetoond dat wildtype *R. equi* humane macrofagen *in vitro* kan infecteren. De genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam overleeft minder goed in humane macrofagen dan de wildtype bacteriestam. Hieruit blijkt dat de vaccinstam een gereduceerde persistentie heeft in humane macrofagen, waardoor het aannemelijk is dat de vaccinstam in mensen verminderd pathogeen is ten opzichte van *R. equi*.

Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd en zowel de vaccinstam als wildtype *R. equi* kunnen tenminste een half jaar in het milieu (bodem, mest) overleven. De vaccinstam overleeft echter niet beter dan de uitgangsstam. Gezien de functie van de verwijderde genen is het onwaarschijnlijk dat als gevolg van de deleties schadelijke effecten optreden op microbiële populaties in het milieu.



#### **5.4. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijk effect**

Vanuit gevaccineerde veulens kan tijdelijk lage hoeveelheden van de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam via de feces in het milieu terecht komen. Uitscheiding van de vaccinstam via feces is bij ongeveer een kwart van de dieren drie weken na vaccinatie nog aangetoond. In de feces werd ongeveer tussen de  $3 \times 10^4$  en  $3 \times 10^5$  bacteriën per gram feces gedetecteerd. Indien een veulen één gram feces van een met het GGO gevaccineerd dier zou inademen dan is de ingesnoeven dosis nog steeds lager dan de minimale infectieuze dosis van wildtype *R. equi*. In een vergelijkbare studie waarin zogenaamde 'contactveulens' werden opgenomen, werd in deze dieren dan ook geen besmetting door de vaccinstam waargenomen. Daarbij betreft het hier de vaccinstam die vanwege de deleties niet in staat is om überhaupt ziekte te veroorzaken in veulens. De kans dat andere dieren of mensen blootgesteld worden aan het GGO én dat daardoor een schadelijk effect optreedt kan beschouwd worden als verwaarloosbaar klein. Geconcludeerd kan worden dat de waarschijnlijkheid van het optreden van mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu verwaarloosbaar klein is.

#### **5.5. Schatting van het risico van het GGO**

In de bovenstaande overwegingen wordt geconcludeerd dat, voor de gebruikte genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam met de deleties van de genen, de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De kans op verspreiding van het GGO in het milieu is aanwezig en derden kunnen blootgesteld worden aan het GGO. De schadelijke effecten die als gevolg hiervan mogelijk kunnen optreden zullen echter ten opzichte van het wildtype *R. equi* verwaarloosbaar klein zijn. Derhalve kan geconcludeerd worden dat met de introductie van de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam de milieurisico's verwaarloosbaar klein zullen zijn.

#### **5.6. Maatregelen voor risicobeheer**

Aangezien de milieurisico's van de toepassing van genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam verwaarloosbaar klein zijn, is het voorschrijven van risicobeheersmaatregelen uit oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu niet noodzakelijk.

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

In Bijlage II, onder D1 van de Richtlijn 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 risicoanalyse worden al deze punten hieronder opgesomd voor de in deze vergunning aangevraagde werkzaamheden, met hun bijbehorende conclusies.

#### **1. Waarschijnlijkheid dat het GGO in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder omstandigheden van de voorgestelde introductie**

De waarschijnlijkheid dat het GGO persistent en invasief wordt is verwaarloosbaar klein, omdat de genetische modificatie niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf persistente of invasieve eigenschappen heeft. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. Het GGO kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. Zowel het GGO als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven, maar de vaccinstam overleeft niet beter dan de uitgangsstam.

#### **2. Selectieve voordelen of nadelen die op het GGO zijn overgedragen en de waarschijnlijkheid dat zulks geschiedt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie**

De waarschijnlijkheid van een verhoogd selectief voordeel bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein, omdat de genetische modificatie niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf selectieve voordelen of nadelen heeft. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. Het GGO kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. De verwijderde genen komen voor in verwante bacteriën waardoor het waarschijnlijk is dat er selectie is om deze genen te behouden. Er zijn geen verwante stammen in de natuur gevonden die deze genen missen. Er is waarschijnlijk geen evolutionair (selectief) voordeel om de genen uit *R. equi* te verwijderen.

#### **3. Kans op overdracht op andere soorten onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie van het GGO en selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten kunnen worden overgedragen**

De waarschijnlijkheid van overdracht op andere soorten bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein, omdat het GGO een 'schone' deletiemutant is. In het GGO zijn geen 'vreemde' DNA sequenties in



het genoom achtergebleven bij het creëren van de deletiemutant. Aan een eventuele recombinatie tussen het GGO en wildtype *R. equi* zijn geen gevolgen verbonden, omdat de ontstane stam identiek zal zijn aan de wildtype bacterie. De kans op transmissie van de erfelijke eigenschappen naar andere bacteriën is verwaarloosbaar klein.

#### **4. Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het GGO en het proefdier, en tussen het GGO en niet-doelwitorganismen**

De waarschijnlijkheid van milieueffecten op doelwitorganismen bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. Het GGO kan niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen en is niet meer in staat ziekte te veroorzaken in veulens, of in andere dieren die getest zijn: muizen, ratten, kippen, varkens en kalveren. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. Zowel het GGO als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven, maar de vaccinstam overleeft niet beter dan de uitgangsstam. Het is onwaarschijnlijk dat als gevolg van de deleties schadelijke milieueffecten optreden op microbiële populaties in het milieu.

#### **5. 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 GGO-introductie**

De waarschijnlijkheid van effecten op menselijke gezondheid bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein, omdat de genetische modificatie niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf nadelige effecten op de menselijke gezondheid teweegbrengt. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. Het GGO kan daarbij minder goed overleven in humane macrofagen ten opzichte van de wildtype bacterie. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. Zowel het GGO als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven, maar de vaccinstam overleeft niet beter dan de uitgangsstam.

#### **6. 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.**

Het GGO zal niet in de voeder/voedselketen opgenomen worden, maar zal wel oraal en/of rectaal aan veulens toegediend worden. De waarschijnlijkheid van effecten op menselijke of diergezondheid bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein, omdat de genetische modificatie niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf nadelige effecten teweegbrengt. Als gevolg van de geïntroduceerde deleties is het GGO ten opzichte van de wildtype stam sterk geattenuëerd in de gastheer. Het GGO kan daarbij niet meer overleven en vermenigvuldigen in macrofagen en is niet meer in staat ziekte te veroorzaken. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. Zowel het GGO als wildtype *R. equi* kunnen lange tijd in het milieu overleven, maar de vaccinstam overleeft niet beter dan de uitgangsstam.

#### **7. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk**

De waarschijnlijkheid van verandering in de staande medische of veterinaire praktijk effecten bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein, omdat de genetische modificatie niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf schadelijke invloed heeft op de staande medische praktijk. Het GGO is een 'schone' deletiemutant, dat wil zeggen dat er geen 'vreemde' DNA sequenties in het genoom achtergebleven bij het creëren van de deletiemutant.

#### **7. ADVIES**

Op 14 april 2010 (CGM/100414-02) heeft de COGEM aangegeven dat de aangeleverde informatie in het dossier onvoldoende was om een adequate milieurisicoanalyse uit te voeren. De COGEM heeft in de betreffende brief om aanvullende informatie verzocht. Op 8 juli 2010 heeft de COGEM over de aangevraagde werkzaamheden, inclusief de geleverde aanvullende informatie, geadviseerd (CGM/100708-01). De COGEM is van mening dat voldoende aannemelijk gemaakt is dat de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam geattenuëerd is in veulens. Daarbij ziet de COGEM geen aanleiding om aan te nemen dat de vaccinstam in de mens en in niet-doelwitorganismen virulenter is dan wildtype *R. equi*. De kans is reëel dat het GGO in het milieu geïntroduceerd zal worden en dat de vaccinstam zich zal kunnen handhaven. Aangezien het GGO een schone deletiemutant is, waarin geen additioneel DNA is geïntroduceerd en een vergelijkbare persistentie in grond- en watermonsters vertoont als de wildtype





bacterie, voorziet de COGEM geen nadelige effecten van de introductie in het milieu van het GGO. De COGEM concludeert dat de risico's voor mens en milieu van de veterinaire studie met de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam verwaarloosbaar klein zijn. Bij het opstellen van de ontwerpbesluit is het COGEM advies (CGM/100708-01) in beschouwing genomen.

## **8. CONCLUSIE**

Het doel van de veterinaire studie is het ontwikkelen van een vaccin tegen *R. equi* pneumonie in veulens. In de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam zijn een viertal genen verwijderd die een rol spelen bij het infecteren en groeien in macrofagen. Het GGO is een 'schone' deletiemutant, dat wil zeggen dat er geen 'vreemde' DNA sequenties in het genoom achtergebleven zijn bij het creëren van de deletiemutant. Ten gevolge van de deleties is de vaccinstam niet meer in staat om te overleven en vermenigvuldigen in macrofagen in de gastheer. Het GGO kan in veulens en andere diersoorten geen ziekte meer veroorzaken. Buiten de gastheer in het milieu zijn de overlevingsmogelijkheden van de vaccinstam niet verminderd. Zowel het GGO als wildtype *R. equi* kunnen tenminste een half jaar in het milieu overleven, maar de vaccinstam overleeft niet beter dan de uitgangsstam. De waarschijnlijkheid dat het GGO zich in het milieu kan handhaven is hierdoor aannemelijk. Het GGO is een deletiemutant waardoor er geen 'nieuw' DNA in het milieu gebracht zal worden dat aan andere micro-organismen overgedragen kan worden. De schadelijke effecten die als gevolg hiervan mogelijk kunnen optreden zullen echter ten opzichte van het wildtype *R. equi* verwaarloosbaar klein zijn. Concluderend kan gesteld worden dat het risico voor mens en milieu bij toepassing van de genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam verwaarloosbaar klein is.

Uit de milieurisicoanalyse blijken aan de aangevraagde werkzaamheden, als deze onder de voorwaarden zoals aangevraagd worden uitgevoerd, geen mogelijke effecten verbonden te zijn die onaanvaardbaar zijn voor mens en milieu. De aanvraag voldoet daarmee aan de bepalingen van het Besluit GGO en de Richtlijn. Er zijn op basis van artikel 9.2.2.3, tweede lid van de Wet milieubeheer dan ook geen redenen om de aangevraagde werkzaamheden te weigeren.



Naar aanleiding van deze overwegingen, gelet op het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (Stb. 1993, 435) alsmede op de Wet milieubeheer (Stb. 1994, 80),

## B E S L U I T:

- I Aan Intervet International B.V. te Boxmeer een vergunning te verlenen als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (Stb. 1993, 435).
- II Aan de vergunning, waarvan de op 30-10-2009 ingediende vergunningaanvraag en de daarbij behorende stukken deel uitmaken, worden de hierna volgende voorschriften verbonden:

### Artikel 1. Definities en begrippen

In deze vergunning wordt, voor zover van toepassing, verstaan onder:

- a. Besluit: Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer (Stb. 1993, 435);
- b. COGEM: commissie genetische modificatie, ingesteld bij de Wet milieubeheer (Stb. 1994, 80);
- c. Minister: Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer, p.a. Directie Risicobeleid, ic 655, Postbus 30945, 2500 GX Den Haag.

### Artikel 2. Toegestane werkzaamheden

1. De onderhavige vergunning heeft uitsluitend betrekking op de in de aanvraag beschreven werkzaamheden met het genetisch gemodificeerde *R. equi* RG2837 stam, in de gemeente Sint Anthonis.
2. Jaarlijks mogen werkzaamheden als bedoeld in het eerste lid uitsluitend doorgang vinden:
  - a. nadat aan de Minister het verslag als bedoeld in Artikel 6, vierde lid, is gezonden; deze bepaling geldt niet voor de eerste keer dat werkzaamheden als bedoeld in het eerste lid worden uitgevoerd;
  - b. voor zover die werkzaamheden zijn beschreven in de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in Artikel 4 en voorzover er minstens 15 dagen zijn verstreken nadat die beschrijving conform Artikel 4 aan de Minister is gezonden, of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

### Artikel 3. Algemene voorschriften

1. De vergunninghouder dient tijdens de uitvoering van de werkzaamheden als bedoeld in Artikel 2 zich te verzekeren van de volledige zeggenschap over de werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen. Daartoe dient voor aanvang van de werkzaamheden in het logboek, als bedoeld in Artikel 6, eerste lid, te worden vastgelegd op welke wijze de zeggenschap wordt gegarandeerd.
2. Medewerkers die uit hoofde van hun functie betrokken zijn bij de werkzaamheden, als bedoeld in Artikel 2 dienen op de hoogte te zijn van de bepalingen in deze vergunning en de invulling daarvan. Hiertoe dient een instructie te worden opgesteld die aan de bij de werkzaamheden betrokken personen ter beschikking wordt gesteld en bij het logboek, als bedoeld in Artikel 6, eerste lid, wordt gevoegd.
3. Voor het interne toezicht op de vergunning worden één of meer milieuveiligheidsfunctionarissen aangesteld die door de Minister van VROM zijn toegelaten. Deze functionarissen zijn deskundig met betrekking tot de werkzaamheden waarvoor deze vergunning is verleend.

### Artikel 4. Voorschriften met betrekking tot de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden

1. De vergunninghouder is verplicht voor de aanvang van de werkzaamheden een beschrijving van de voorgenomen werkzaamheden aangetekend te zenden aan de Minister.
2. Voor het maken van een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in het eerste lid, dient tenminste het bij deze vergunning gevoegde formulier 'beschrijving van voorgenomen werkzaamheden' volledig en naar waarheid te worden ingevuld, waarbij in ieder geval vermeld dient te worden op welke datum en op welke locatie de werkzaamheden van start gaan en hoeveel proefdieren worden geïncubeerd.



#### **Artikel 5. Voorschriften met betrekking tot controle**

1. Iedere wijziging van gegevens met betrekking tot de vergunningaanvraag of de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden, moeten in het logboek worden opgenomen en onverwijld schriftelijk aan de Minister worden gemeld. Tot wijzigingen van gegevens behoren in ieder geval:
  - wijziging (in de naamgeving) van de rechtspersoon zoals vermeld in de aanvraag,
  - wijziging van contactpersoon, of
  - wijziging van milieuveiligheidsfunctionaris
2. Gedurende het uitvoeren van de in Artikel 2, eerste lid, bedoelde werkzaamheden moet regelmatig en doelmatig op locatie gecontroleerd worden op afwijkingen ten opzichte van de gegevens in de onderliggende aanvraag. Deze afwijkingen dienen te worden genoteerd in een logboek, als bedoeld in Artikel 6, eerste lid.
3. Afwijkingen van de werkzaamheden, zoals bedoeld in het tweede lid, die van invloed kunnen zijn op de risico's voor mens en milieu, dienen onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister gemeld te worden.
4. Iedere onvoorziene omstandigheid die de werkzaamheden betreft zoals beschreven in Artikel 2, eerste lid, moet onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Minister worden gemeld.
5. Bij een schriftelijke melding kan contact opgenomen worden met het RIVM/SEC/Bureau GGO, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven of via faxnummer 030-2744401.  
Bij een telefonische melding als bedoeld in het derde en vierde lid, kan 24 uur per dag contact opgenomen worden met het Ministerie van VROM, 070-3832425. Tijdens kantooruren kan ook contact opgenomen worden met het RIVM/SEC/Bureau GGO, telefoonnummer 030-2742793.
6. Bij een melding, als bedoeld in het derde en vierde lid, moeten aan de Minister onverwijld de gegevens zoals gevraagd in het bij de beschikking gevoegde meldingsformulier "Meldingsformulier onverwachte situaties" worden doorgegeven. Dit formulier is beschikbaar via de website <http://www.vrom.nl/ggo-vergunningverlening>.

#### **Artikel 6. Voorschriften met betrekking tot verslaglegging**

1. De vergunninghouder is verplicht van de voortgang van de werkzaamheden, als bedoeld in Artikel 2, eerste lid, doelmatig en frequent een logboek bij te houden.
2. In het logboek, als bedoeld in het eerste lid, moeten tenminste de gegevens zoals vermeld in de bij deze vergunning behorende bijlage 'inhoud logboek' worden bijgehouden.
3. De vergunninghouder is verplicht het logboek, als bedoeld in het eerste lid, ter beschikking te houden van toezichthoudende ambtenaren.
4. De vergunninghouder is verplicht jaarlijks een verslag van verrichte werkzaamheden, voor het eind van het kalenderjaar waarin die werkzaamheden hebben plaatsgevonden, aangetekend te zenden aan de Minister.
5. Voor het maken van het verslag van verrichte werkzaamheden, als bedoeld in het vierde lid, dient tenminste het bij deze vergunning gevoegde formulier 'verslag van verrichte werkzaamheden' volledig en naar waarheid te worden ingevuld.
6. De vergunninghouder is verplicht na voltooiing van de werkzaamheden die vallen onder de onderhavige vergunning voor introductie in het milieu voor het einde van het kalenderjaar een verslag in te dienen over de resultaten van de werkzaamheden. Hiertoe dient het rapportageformulier te worden gebruikt zoals dat is vastgelegd in de beschikking nr. 2003/701/EG van de Commissie van de Europese Gemeenschappen van 29 september 2003 (PbEU L254).

#### **Artikel 7. Nadere eisen**

De vergunninghouder dient te voldoen aan de door de Minister te stellen nadere eisen als bedoeld in artikel 9.2.2.3 Wet milieubeheer, betreffende de voorschriften bedoeld in de voorgaande artikelen.

Den Haag, datum<<ONDERTEKENING\_DATUM>>

De Minister van Volkshuisvesting,  
Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer,  
hier komt de handtekening

<<ONDERTEKENING\_HANDTEKENING>>

en de naam van de ondertekenaar<<ONDERTEKENING\_OFFICIELE\_NAAM>>



---

**BESCHRIJVING VAN VOorgenomen WERKZAAMHEDEN**

---

Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten

**1. ALGEMENE GEGEVENS**

- 1.1. Nummer van de vergunning: **“nummer vergunning”**
- 1.2. Het kalenderjaar waarvoor deze beschrijving van voorgenomen werkzaamheden geldt:
- 1.3. De datum waarop het eerste proefdier behandeld zal worden (alleen van toepassing indien de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden betrekking heeft op het jaar van start van de studie):

**2. BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN**

- 2.1. Beschrijf het doel van de studie:
- 2.2. Geef een korte inhoudelijke beschrijving van de studie:
- 2.3. Geef een beschrijving van de te gebruikte batch van GGO(s) waarbij in ieder geval wordt vermeld:
  - een beschrijving van het/de GGO(s): de naam, aard van de vector, beschrijving van de modificaties:
  - de concentraties van de GGO(s):
  - aard van eventueel naast het/de GGO(s) aanwezige organismen of biologisch actieve stoffen:
  - de uit oogpunt van milieuveiligheid gestelde verwerpscriteria waaraan de batch voldoet:
- 2.4. Wat is de maximale dosis per toediening aan een proefdier, en wat is de maximale cumulatieve dosis die aan een proefdier in de studie toegediend wordt:
- 2.5. Beschrijf via welke toedieningsweg(en) het GGO aan het proefdier wordt toegediend:
- 2.6. Vermeld het aantal proefdieren die reeds in de studie opgenomen zijn en vermeld het aantal proefdieren dat nog geïncubeerd zal worden in de studie:
- 2.7. Geef de volgende locatiegegevens, waaronder bezoekadressen en nummers van de ruimten, van:
  - de bewaarplaats(en) van de batch:
  - de bewaarplaats(en) van biologisch materiaal anders dan afval, afkomstig uit deze studie:
  - de plaats(en) waar de batch bereid wordt en waar handelingen worden uitgevoerd met biologisch (proefdier) materiaal afkomstig uit deze studie:
  - de plaats waar het logboek kan worden ingezien:
- 2.8. Geef de locatie (bezoekadres) waar proefdieren worden behandeld en gehuisvest:
- 2.9. Beschrijf hoe gevolg wordt gegeven aan de bijzondere voorschriften bedoeld in Artikel 4 van de vergunning:
- 2.10. Beschrijf alle, uit oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu, te monitoren aspecten:

**3. AFVALVERWERKING**

- 3.1. Beschrijf de samenstelling van het verwachte afval:
- 3.2. Geef de locatie waar afval wordt opgeslagen voordat het wordt afgevoerd of vernietigd:
- 3.3. Beschrijf de wijze waarop het afval zal worden verwerkt:



---

## **INHOUD LOGBOEK**

---

**Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten**

### **1. ALGEMENE GEGEVENS**

- 1.1. Vermeld het nummer van de vergunning. *“nummer vergunning”*

**De volgende gegevens moeten in het logboek worden opgenomen:**

### **2. BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN**

- 2.1. De datum van verzending van de jaarlijkse beschrijving van voorgenomen werkzaamheden aan het bevoegd gezag, en de datum van ontvangst van een eventuele reactie van het bevoegd gezag
- 2.2. Voor iedere batch:
- de datum van ontvangst
  - een kopie van de kwaliteitsgegevens
  - de actuele plaats van opslag
- 2.3. Voor ieder geïncorporeerd proefdier de resultaten van tests waaruit blijkt dat het proefdier voldoet aan de in de vergunning gestelde in- en exclusiecriteria
- 2.4. Voor iedere toediening aan een proefdier een beschrijving van eventuele onvoorziene omstandigheden die zich bij de toediening en/of na de toediening hebben voorgedaan, waarbij in ieder geval de volgende gegevens opgenomen dienen te zijn:
- de naam of codering van het proefdier
  - de maatregelen die zijn genomen om de gevolgen voor mens en milieu te beperken
  - de datum waarop en de autoriteit aan wie melding is gedaan
  - indien geen melding is gedaan: de reden waarom melding achterwege is gebleven
- 2.5. Gegevens over huisvesting (of dierverblijf) en beëindiging van deelname aan de studie van een proefdier:
- de naam of codering van het proefdier
  - datum van opname in huisvesting en locatie van huisvesting
  - datum van vertrek uit huisvesting of beëindiging van deelname aan de studie
  - de tests en de resultaten op grond waarvan besloten is tot beëindiging van de huisvesting
  - eventuele andere redenen voor beëindiging van de huisvesting of deelname aan de studie

### **3. VERVOER**

- 3.1. Vermeld de data waarop materiaal is vervoerd buiten de instelling waar de behandeling van de proefdieren plaatsvindt en vermeld daarbij de hoeveelheid materiaal, het verzendadres en de wijze van verpakken. Het voorgaande geldt voor het studiemateriaal dat aan de proefdieren wordt toegediend maar ook voor monsters die mogelijk GGO's kunnen bevatten.

### **4. AFVALVERWERKING**

- 4.1. Voor alle afval dat GGO's bevat of kan bevatten, inclusief alle van een proefdier afgenomen materiaal:
- de datum, de locatie en de manier van afvalverwerking
  - in geval van verbranding in een vuilverbrandingsinstallatie, voeg de schriftelijke bewijzen van vernietiging toe.



---

**VERSLAG VAN VERRICHTE WERKZAAMHEDEN**

---

Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten

**1. ALGEMENE GEGEVENS**

- 1.1. Nummer van de vergunning: *“nummer vergunning”*
- 1.2. Jaar van verslaglegging:

**2. BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN**

- 2.1. Beschrijf de proefopzet:
- 2.2. Beschrijf het doel van de proef:
- 2.3. Geef de namen van de gebruikte GGO's en beschrijf kort de genetische modificatie:

**3. RESULTATEN**

- 3.1. Beschrijf de resultaten van de verrichte werkzaamheden:
- 3.2. Vermeld het aantal proefdieren dat
  - in de verslagperiode nieuw is geïncubeerd:
  - reeds eerder werd geïncubeerd, en dit jaar nog deelnam aan het onderzoek:
  - in de toekomst nog geïncubeerd kan worden:
- 3.3. Geef aan hoeveel proefdieren dit jaar de studie hebben afgerond en hoeveel proefdieren dit jaar met de studie vroegtijdig zijn gestopt waarbij aangegeven moet worden wat hiervan de reden is geweest:
- 3.4. Beschrijf de onverwachte neveneffecten geconstateerd bij het uitvoeren van specifieke testen:
- 3.5. Beschrijf waargenomen afwijkingen ten opzichte van de vooraf verwachte resultaten die van belang kunnen zijn voor de milieurisicobeoordeling:
- 3.6. Beschrijf indien van toepassing de resultaten van de uitgevoerde monitoring:
- 3.7. Beschrijf hoe gevolg is gegeven aan de bijzondere voorschriften bedoeld in Artikel 4 van de vergunning:
- 3.8. Geef aan welke waarnemingen, die van belang zijn voor de beschreven milieurisicobeoordeling, gedaan zijn in andere vergelijkbare (inter)nationale studies: