

> Retouradres: RIVM/VSP/BGGO, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

RIVM/VSP/Bureau GGO
Antonie van
Leeuwenhoeklaan 9
Postbus 1
3720 BA Bilthoven
<http://bggo.rivm.nl>

Contactpersoon
Bureau GGO

T (030) 274 2793
F (030) 274 4401
bggo@rivm.nl

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Uw kenmerk

Bijlage(n)

Ontwerpbeschikking GGO IM-MV 15-001

Gelezen de aanvraag van het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam, te Rotterdam, van 19 december 2014 en de aanvullende informatie van 17 februari 2015, van 12 maart 2015 en van 30 maart 2015, om een vergunning als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer,

De Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu,

overwegende,

1. AANVRAAG¹

De aanvraag heeft betrekking op een fase 1/2 klinische studie in patiënten met hemofilie B. In deze studie wordt gebruik gemaakt van een replicatiedeficiënt genetisch gemodificeerd Adenovirus-geassocieerd virus (rAAV), waarin een sequentie is ingebracht die codeert voor het humane factor IX eiwit (AAV5-hFIX). De werkzaamheden zijn voorgenomen plaats te vinden in de gemeente Rotterdam.

Hemofilie B is een zeldzame bloedziekte veroorzaakt door een tekort aan (stollings)factor IX. De ziekte treft ongeveer 1 op de 25.000 levende mannelijke pasgeborenen. Het factor IX eiwit is een serine protease die geproduceerd wordt door de lever. Het eiwit circuleert in de bloedbaan en is cruciaal voor bloedstolling. AAV5-hFIX is ontworpen om een codon geoptimaliseerde variant van het humane coagulatie factor IX gen aan de lever van patiënten die lijden aan hemofilie B te verstrekken. Hierdoor wordt de stabiele expressie van coagulatie factor IX hersteld en worden de bloedingsverschijnselen en de kwaliteit van leven van de patiënten verbeterd.

¹Voor 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, eerste 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 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, van de Wet milieubeheer kan een vergunning slechts in het belang van de bescherming van mens en milieu worden geweigerd.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

2.2. De aanvraag en beoordeling

De aanvraag moet conform artikel 24, eerste lid, van het 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 het bijbehorende Richtsnoer (2002/623/EG). Bij de beoordeling van een aanvraag en de afgifte van een vergunning, kan de Staatssecretaris 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.

Naarmate meer kennis is verkregen over het ggo en de toepassing van het ggo, kan eventueel worden overgaan tot het beperken van de inperkende voorschriften (het stap voor stap principe).

Na de milieurisicoanalyse kan de Staatssecretaris bij grote mate van wetenschappelijke onzekerheid met betrekking tot de geïdentificeerde risico's, op basis van het voorzorgsbeginsel extra maatregelen aan de beschikking verbinden. 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).

Uit het bovenstaande volgen een paar essentiële termen die een nader toelichting behoeven voor een juist begrip van de vergunning en de vergunningverlening. Dit zijn, respectievelijk, de milieurisicoanalyse, het stap voor stap principe en het voorzorgsbeginsel.

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.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

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 dus 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 Staatssecretaris 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. PROCEDURELE ASPECTEN

De aanvraag is ontvangen d.d. 22-12-2014. De aanvraag en de aanvullende informatie zijn getoetst aan de vereisten zoals genoemd in artikel 24 van het Besluit ggo en voldoen 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 IenM, EZ en VWS, zijn procedurele afspraken gemaakt over het tijdstip van advisering door de COGEM. Deze afspraken houden mede 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 en de door de Staatssecretaris opgestelde ontwerpbeschikking.

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.

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

4.1. Gastheerorganisme (AAV)

Algemeen:

De virale vector die in deze studie wordt gebruikt is afgeleid van een humaan *Adeno-associated Virus* subtype 2 (AAV-2). AAV behoort tot de familie *Parvoviridae*, genus *Dependovirus*, en is een enkelstrengs DNA virus zonder envelop. Het Adeno-associated Virus (AAV) is afhankelijk van een helpervirus voor replicatie. Van onder andere Adenovirus en Herpes simplex virus (HSV) is bekend dat zij voor AAV als helpervirus kunnen optreden. Het wildtype AAV virus bezit een tweetal genen, *rep* en *cap*, die verantwoordelijk zijn voor de replicatie en voor de vorming van het manteleiwit van het virus. De *rep* en *cap* genen zijn omgeven door twee zogenaamde inverted terminal repeats (ITR's). Deze ITR's zijn nodig voor het inpakken van het genetisch materiaal in de virusmantel, de integratie in het gastheergenoom en deze hebben een functie bij replicatie. Het helpervirus zorgt ervoor dat de geïnfekteerde cel in een zodanige fysiologische staat wordt gebracht dat vermenigvuldiging van AAV mogelijk wordt.

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 welke onder andere verschillen in gastheerspecificiteit en weefseltropisme. Omdat een infectie met AAV niet in verband gebracht wordt met enig ziektebeeld, wordt AAV gezien als een zeer geschikt uitgangsvirus voor vectoren voor genterapie.

Infectie, replicatie en uitscheiding

De genetisch gemodificeerde vector is replicatiedeficiënt ten gevolge van de ontbrekende *rep* en *cap* genen. De vector kan cellen wel infecteren en met lage frequentie in het genoom integreren. De meest waarschijnlijke infectieroutes van AAV verlopen via de luchtwegen, via de fecaal-orale route of via de ogen. Verticale overdracht van AAV (kiembaantransmissie) is niet aangetoond in preklinische studies of in de literatuur beschreven. AAV-2 kenmerkt zich door een breed celtropisme (spieren, hersenen, longen, lever). Daarnaast wordt AAV gekenmerkt door een hoge stabiliteit buiten de gastheer. AAV kan integreren in het genoom van de gastheercel en kan daar latent aanwezig blijven. Latent wildtype AAV-2 kan bij aanwezigheid van een helpervirus gereactiveerd worden.

4.2. De insertie (factor IX)

De insertie bestaat uit een expressiecassette met daarin de codon geoptimaliseerde sequentie coderend voor het humane factor IX (FIX) eiwit. Het FIX eiwit is een serine protease die geproduceerd wordt door de lever. Het eiwit circuleert in de bloedbaan en is cruciaal voor bloedstolling.

4.3. Het ggo

Constructie

Voor de constructie van het GGO is een AAV serotype 2 uitgangsvector gebruikt. Deze uitgangsvector, AAV *rep-/cap-*, kan zich, door afwezigheid van *rep* en *cap* genen niet vermenigvuldigen. De ITR's zijn de enige AAV sequenties die nog aanwezig zijn in de

uitgangsvector. Deze ITR's zijn niet-coderende sequenties die een rol spelen in de replicatie en de vorming van virusdeeltjes. Tussen deze twee ITR's is de FIX expressiecassette opgenomen.

De expressiecassette bevat naast de FIX sequentie een humane LP1 promotor /enhancer en een SV40 polyadenylatie (polyA) signaal. Tussen de LP1 promotor /enhancer en de FIX sequentie bevindt zich een SV40 intron. Het SV40 polyadenylatie (polyA) signaal en het SV40 intron zijn gebaseerd op de sequentie van *Simian virus 40*.

De LP1 promotor /enhancer draagt zorg voor lever-specifieke expressie van de FIX sequentie. Dit betekent dat FIX in humane cellen specifiek in de lever tot expressie komt. Het SV40 intron wordt gebruikt om de expressie van het transgen te verbeteren. Het SV40 polyadenylatie signaal is nodig voor effectieve translatie van het FIX mRNA transcript. Al deze regulatoire sequenties worden niet vertaald in een eiwit.

De virale vector is afgeleid van een AAV serotype 2 (AAV2) vector, maar het virusdeeltje heeft capside eiwitten afkomstig van het humane AAV serotype 5 (AAV5) virus.

Virulentie

Het GGO (AAV5-hFIX) is replicatiedeficient, dat wil zeggen dat het GGO niet in staat is zich zelfstandig te vermeerderen door het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Een virusdeeltje kan een cel slechts éénmaal infecteren. Het genproduct van de geïntroduceerde FIX sequentie kan niet in verband worden gebracht met een functie in de virusbiologie van de vector. Het is daarom niet te verwachten dat het transgen de functie van de vector op een of andere manier zal beïnvloeden. Door het replicatie defectieve karakter is de vector ook verminderd persistent in vergelijking tot het wildtype AAV.

4.4. Beschrijving van het onderzoek

Het onderzoek zal plaatsvinden in het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam te Rotterdam. In totaal zullen 15 patiënten met hemofilie B in de studie opgenomen worden. De toediening van het GGO aan de patiënt en de opvolgende 24 uren observatieperiode vindt plaats op een patiëntenafdeling. Een enkele dosis van 5×10^{12} genoomkopieën (gc) per kilogram (kg) (equivalent aan ongeveer 5×10^{13} virusdeeltjes/kg) of 2×10^{13} gc/kg (equivalent aan ongeveer 2×10^{14} virusdeeltjes/kg) van het GGO zal intraveneus aan patiënten worden toegediend. Toediening vindt plaats door middel van een infusiepomp. Tijdens de toediening van AAV5-hFIX zullen standaard voorschriften worden toegepast om morsen en aerosolvorming te beperken. Het medisch personeel dat het GGO toedient zal beschermende kleding, een veiligheidsbril, handschoenen en een mond- en neusmasker dragen.

Na toediening van het GGO aan de patiënt zullen standaard ziekenhuishygiënische maatregelen worden genomen. Om medische redenen dienen patiënten na toediening 24 uur in het ziekenhuis te verblijven voor monitoring van tolerantie voor het GGO en voor detectie van potentiële onmiddellijke schadelijke effecten.

4.5. Productie, vervoer, bemonstering en afvalbehandeling

Productie en vervoer

De productie van het GGO vindt plaats onder current Good Manufacturing Practice (cGMP) condities door het bedrijf uniQure biopharma B.V. onder een ingeperkt gebruik vergunning (IG 00-095) en maakt geen onderdeel uit van de onderhavige aanvraag. Het GGO wordt geproduceerd in expresSF+ insectencellen, welke afkomstig zijn van *Spodoptera frugiperda*, met behulp van drie verschillende recombinante baculovirussen. De drie baculovirussen bestaan uit dezelfde baculovirus backbone, maar bevatten ieder een ander insert. Een baculovirus bevat twee AAV rep genen, Bac(Rep), beide afkomstig van AAV2 en onder controle van een insectencel-specifieke promotor. Een baculovirus bevat het AAV cap gen, Bac(Cap), afkomstig

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

van AAV5 en onder controle van een insectencel-specifieke promotor. Een baculovirus bevat het AAV vector genoom, Bac(hFIX), bestaande uit de therapeutische transgen expressiecassette welke geflankeerd wordt door twee van AAV2 afkomstige ITRs. De drie baculovirussen Bac(Rep), Bac(Cap) en Bac(hFIX), benodigd voor de productie van het GGO, worden geproduceerd in Sf9 insectencellen.

De gebruikte insectencellen en de recombinante baculovirussen worden geproduceerd volgens internationale ICH (International Conference on Harmonisation) en Ph. Eur. (European Pharmacopeia) richtlijnen. Productcontrole en vrijgifte testen vinden plaats gedurende verschillende stadia van het productieproces. De gezuiverde virusdeeltjes zijn gecontroleerd door te testen voor verschillende parameters gerelateerd aan onder andere zuiverheid, biologische activiteit en identiteit.

Na productie wordt het GGO getransporteerd naar de apotheek van het ziekenhuis. Hier wordt het GGO in ontvangst genomen en opgeslagen conform het gestelde in de Regeling GGO. In de ziekenhuisapotheek wordt de infusiezak met het GGO in een bioveiligheidskabinet van klasse II gereed gemaakt voor toediening. Tijdens de preparatie van het GGO zullen standaard veiligheidsvoorschriften worden toegepast in de ziekenhuisapotheek en zal het personeel beschermende kleding en handschoenen dragen. De infusiezak met het GGO zal binnen het ziekenhuis worden getransporteerd in een gesloten en lekdichte container conform het gestelde in de Regeling GGO.

Monstername en -analyse

Na toediening van het GGO zullen nasale secreties, bloed-, speeksel-, urine-, feces- en spermamonsters worden genomen. Monsterafname, het transport van de monsters binnen het ziekenhuis en de bewerking en opslag van de monsters in het ziekenhuis zal plaatsvinden conform het gestelde in de Regeling GGO. Voor alle humane monsters worden routine maatregelen genomen, bedoeld om pathogenen in bloed te controleren en om ziekenhuispersoneel te beschermen tegen pathogenen in het bloed. Deze maatregelen omvatten het dragen van handschoenen en een laboratoriumjas of uniform. Monsters die niet worden geanalyseerd in het ziekenhuis worden getransporteerd naar een laboratorium in het buitenland volgens de GGO regelgeving. Gebaseerd op de resultaten uit dierstudies wordt verwacht dat bloed-, speeksel-, urine-, feces- en spermamonsters genomen tot enkele weken na toediening van het GGO aan de proefpersoon vector DNA zullen bevatten en dat alleen bloedmonsters genomen tot 72 uur na toediening van het GGO aan de proefpersoon infectieuze partikels zullen bevatten.

Afval en besmet materiaal

Het afval, waaronder gebruikte ampullen, slangetjes, naalden, spuiten, de infusiezak en persoonlijke beschermingsmiddelen, zal worden afgevoerd als biologisch afval conform het gestelde in de Regeling GGO. Besmette ampullen en hulpmiddelen zullen worden afgevoerd als ziekenhuisafval en worden verbrand. Niet wegwerpbaar materiaal wordt na gebruik schoongemaakt met een 1000 ppm chlooroplossing. Indien mogelijk worden de materialen daarna geautoclaveerd. Oppervlakten die met het GGO in contact zijn geweest worden gedesinfecteerd met een 1000 ppm chlooroplossing. De patiëntenkamer op de afdeling zal worden gedesinfecteerd met een 250 ppm chlooroplossing en worden schoongemaakt volgens standaard ziekenhuishygiënische maatregelen.

4.6. Interactie met het milieu

Het GGO dat in deze studie aan de proefpersonen toegediend wordt is gebaseerd op een AAV vector. Op basis van experimenten in proefdieren en klinische studies met vergelijkbare vectoren, wordt verwacht dat het GGO niet of in het ergste geval (in aanwezigheid van een helpervirus) tijdelijk kan repliceren in mensen. In afwezigheid van helpervirussen komen vrijwel geen infectieuze vectordeeltjes vrij. In aanwezigheid van een helpervirus kunnen kleine hoeveelheden virusdeeltjes vrijkomen, deze hoeveelheden zijn vele malen kleiner dan de hoeveelheden die bij de behandeling van

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

de patiënt worden toegediend. Verspreiding in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden ten gevolge van lekkage van de vector uit de injectieplaats kort nadat het GGO aan de patiënten is toegediend. Hierdoor kunnen derden blootgesteld worden aan het GGO en kan een infectie van derden niet worden uitgesloten. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal echter vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheden die tijdens de behandeling aan de patiënt worden toegediend. Aangezien het GGO niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

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 de aanvraag GGO IM-MV 15-001". Het werkdocument is openbaar en wordt ter inzage gelegd bij de (ontwerp)beschikking.

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

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 Infrastructuur en Milieu 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.

De milieurisicoanalyse is uitgevoerd voor de in de aanvraag beschreven werkzaamheden.

5.1. Algemeen

Van het GGO dat in het milieu gebracht zal worden geeft de aanvrager op basis van resultaten uit diermodellen en vergelijkbare klinische studies in mensen aan, dat de therapie naar verwachting zal leiden tot een kortdurende aanwezigheid van vectordeeltjes in de patiënt.

In de milieurisicoanalyse wordt beoordeeld of en hoe derden blootgesteld kunnen worden aan het GGO, en of vervolgens infectie van derden met het GGO op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als derden geïnfecteerd raken met het GGO. Bij de beoordeling wordt uitgegaan van het feit dat de uitgangsvector AAV beschouwd kan worden als een niet-pathogeen virus.

5.2. Het GGO

Persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen

In de virale vector AAV5-hFIX 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. Er zijn, mede gezien de normale functie van het FIX eiwit in de mens, geen redenen om aan te nemen dat FIX effecten heeft op de virusbiologie van AAV of dat het eiwit de functies van de *rep* en *cap* genen kan complementeren. Expressie van FIX door de virale vector kan daarom niet leiden tot vorming van nieuwe virusdeeltjes. Doordat het capsid van het virusdeeltje bestaat uit AAV5 eiwitten zal het gastheerbereik en weefseltropisme hetzelfde zijn als voor wildtype AAV5. Uit preklinische studies blijkt dat de biodistributie en persistentie van het GGO vergelijkbaar zijn met andere AAV vectoren.

Recombinante AAV virusdeeltjes

Recombinatie tijdens de productie van de virale vector kan leiden tot replicatiecompetente AAV virusdeeltjes (rcAAV). De AAV vector heeft echter een beperkte packaging capaciteit. Met een bio-assay wordt de aanwezigheid van rcAAV in de batch getest. Na drie seriële passages van een monster van de batch in HeLa cellen in aanwezigheid van wildtype adenovirus worden de monsters geanalyseerd voor de aanwezigheid van AAV DNA met behulp van qPCR. De gevoeligheid van de bio-assay is 1 rcAAV virusdeeltje per 2×10^9 genoom bevattende virusdeeltjes. Een batch wordt verworpen indien rcAAV gedetecteerd wordt.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Tijdens de productie van de virusbatch kunnen onbedoeld gastheercel sequenties van de insectencellen en productiesysteem gerelateerde sequenties (bijvoorbeeld rep, baculovirus DNA) terechtkomen in replicatiedeficiënte AAV virusdeeltjes. Dit is een bekend fenomeen voor recombinante AAV vectoren die in andere klinische studies worden toegepast. Om de aanwezigheid van dergelijke niet-vector gerelateerde sequenties te detecteren wordt de virusbatch gecontroleerd met verschillende qPCR assays specifiek voor deze sequenties. Uit sequentieanalyse van een batch van de AAV5-hFIX vector blijkt dat de aanwezigheid van deze sequenties in de replicatiedeficiënte virusdeeltjes 2 tot 3 log lager is dan de AAV5-hFIX virusdeeltjes.

Genoverdracht

Na toediening van het GGO kan in aanwezigheid van wildtype AAV complementatie van *rep* en *cap* genen optreden en kan replicatie van de vector mogelijk plaatsvinden. Uiteraard is ook dan, evenals voor replicatie van wildtype AAV, de aanwezigheid (co-infectie van dezelfde cel) van helpervirussen, namelijk adenovirus of herpesvirus, essentieel. Indien het GGO in een cel al in contact komt met helpervirussen én wildtype AAV, dan zal deze repliceren en vervolgens een andere cel kunnen infecteren. In deze nieuw geïnfecteerde cel zal alleen replicatie op kunnen treden als aan dezelfde voorwaarden wordt voldaan. Deze tijdelijke replicatie zal in afwezigheid van het helpervirus ophouden waardoor eventuele verspreiding van het virus hierdoor uiteindelijk zal uitdoven.

Daarnaast is er een theoretische kans dat in de patiënt door recombinatie rcAAV ontstaan met daarin sequenties van een helpervirus. Recombinatie tussen de vector en wildtype AAV zal alleen resulteren in uitwisseling van homologe sequenties zoals de ITRs. Hierdoor kunnen de *rep* en *cap* genen van het wildtype AAV uitgewisseld worden met de FIX expressiecassette van het GGO. De ontstane virusdeeltjes bevatten de FIX expressiecassette, maar zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn.

Verticale transmissie

Er zijn geen redenen om aan te nemen dat transmissie van het genetisch materiaal via de kiembaan (verticale transmissie) plaats zal vinden.

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

Onbedoelde blootstelling van derden aan het GGO kan resulteren in (over)expressie van het normale humane FIX eiwit en inductie van een immuunrespons tegen de AAV5-hFIX capsid eiwitten. Een geringe overexpressie van FIX mag als normaal beschouwd worden aangezien in gezonde individuen FIX niveaus kunnen variëren van 50% tot 200% ten opzichte van de (normale) referentiewaarde. Uit eerdere preklinische en klinische studies blijkt dat er geen nadelige effecten te verwachten zijn als gevolg van additionele expressie van FIX. Een afweerreactie tegen AAV5 capsid eiwitten zal asymptomatisch zijn, op dezelfde manier als dat een natuurlijk voorkomende infectie met AAV een asymptomatische afweerreactie induceert. Het

GGO heeft een brede biodistributie en het is aannemelijk dat shedding zal optreden. Echter, de concentraties van het GGO die in het milieu zullen terechtkomen zullen vele malen lager zijn dan de toegediende dosis.

5.4. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijk effect

Uit eerdere preklinische studies blijkt dat er geen schadelijke effecten van het GGO zijn waargenomen in diverse diersystemen. Het GGO is replicatiedeficiënt en AAV is niet pathogeen. Na toediening zal het GGO slechts gedurende korte tijd in het milieu terecht kunnen komen door shedding. In een fase 1/2 klinische studie werden AAV5 vectoren (5×10^{11} tot 1.8×10^{13} genoomkopieën/kg) via een enkele intravasale infusie toegediend. Vector DNA was niet meer detecteerbaar in alle geteste samples (serum, speeksel, nasale secreties, urine en feces) 4 weken na toediening. Doordat het GGO replicatiedeficiënt is, zal deze een beperkte tijd in het lichaam aanwezig blijven.

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Ook voor de aanwezigheid van replicatiedeficiënte virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties geldt dat deze slechts een beperkte tijd in de patiënt aanwezig blijven en tijdelijk kunnen worden uitgescheiden in het milieu. In het onwaarschijnlijke geval dat derden worden blootgesteld aan AAV virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties, zoals het *rep* gen en baculovirus DNA, zijn er geen nadelige effecten te verwachten omdat *rep* sequenties van nature in AAV virusdeeltjes voorkomen. Wildtype AAV heeft geen pathogene eigenschappen en baculovirussen zijn insectenvirussen die niet kunnen repliceren in zoogdiercellen en geen nadelige effecten hebben op mensen. Daarnaast betreft het hier, gezien de uitkomst van de test op rcAAV, replicatiedeficiënte virusdeeltjes. Van de volwassen humane populatie is 90% seropositief voor AAV waardoor AAV virusdeeltjes met bijvoorbeeld een *rep* gen door het afweersysteem herkent en afgebroken worden. In het onwaarschijnlijke geval dat een eventuele infectie van derden optreedt zal dit een uitdovend effect zijn. De kans op nadelige effecten in derden van recombinante AAV virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties is daarom verwaarloosbaar klein.

In de patiënt is er een mogelijkheid dat nieuwe virusdeeltjes gevormd worden als gevolg van complementatie of recombinatie van het GGO met AAV *rep* en *cap* genen. Hiertoe is het noodzakelijk dat in dezelfde cel het GGO én wildtype AAV én een helpervirus, zoals *adenovirus*, *herpes simplex virus*, *pseudorabies virus* of *humana papilloma virus*, aanwezig zijn. Aan het ontstaan van nieuwe virusdeeltjes als gevolg van complementatie of recombinatie met AAV *rep* en *cap* genen in de patiënt zijn geen schadelijke effecten verbonden. De mogelijk ontstane virusdeeltjes bij complementatie zijn qua eigenschappen identiek aan het GGO en zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn. Virusdeeltjes die als gevolg van recombinatie de *rep* en *cap* bezitten zullen identiek zijn aan wildtype AAV. De waarschijnlijkheid van het ontstaan van dergelijke virusdeeltjes waaraan geen schadelijke effecten verbonden zijn is daarbij ook zeer onwaarschijnlijk omdat daarvoor het GGO én wildtype AAV én een helpervirus tegelijkertijd in een cel aanwezig moeten zijn.

Het GGO is replicatiedeficiënt en AAV is niet pathogeen. Na toediening zal het GGO slechts gedurende korte tijd in het milieu terecht kunnen komen door shedding. Doordat de virale vector replicatiedeficiënt is, zal deze voor een beperkte tijd in het lichaam aanwezig blijven. De waarschijnlijkheid dat derden geïnfecteerd worden met in de patiënt ontstane recombinante virussen met veranderde eigenschappen is verwaarloosbaar klein. Daarbij zijn in eerdere studies geen nadelige effecten van het GGO beschreven.

5.5. Schatting van het risico van het GGO

In de bovenstaande overwegingen wordt geconcludeerd dat voor de gebruikte virale vector AAV5-hFIX de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De te

gebruiken virale vector is replicatiedeficiënt en zal daardoor tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. AAV infecties komen veelvuldig voor, over de hele wereld, zonder dat daarmee enig ziektebeeld in verband wordt gebracht. Daarbij zijn er geen negatieve effecten te verwachten als gevolg van additionele expressie van het transgen FIX. De kans dat recombinatie en/of complementatie optreedt met andere virussen waardoor infectieuze recombinante virussen ontstaan is zeer klein. De kans dat dit leidt tot schadelijke gevolgen in derden is verwaarloosbaar klein.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

5.6. Maatregelen voor risicobeheer

Het optreden van AAV kiembaantransmissie is niet aangetoond in preklinische studies en ook niet in de literatuur beschreven. Om de theoretische kans op kiembaantransmissie helemaal uit te sluiten geeft de aanvrager aan dat behandelde patiënten vereist worden een condoom te gebruiken in de periode na toediening van AAV5-hFIX totdat de AAV5 vector geklaard is uit het sperma. Hiertoe dienen minstens drie opeenvolgende verzamelde spermamonsters negatief te zijn voor aanwezigheid van AAV5-hFIX vector DNA.

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

6. CONCLUSIES VAN MOGELIJKE MILIEUEFFECTEN VAN DE INTRODUCTIE

In Bijlage II, onder D1 van de Richtlijn worden 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

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

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

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

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 het optreden van recombinatie van het GGO met wildtype AAV virussen in de proefpersonen, derden of niet-doelwit organismen is verwaarloosbaar klein. Doordat de virale vector replicatiedeficiënt is zal deze voor een beperkte tijd in het lichaam aanwezig blijven. Het ontstaan van recombinante virusdeeltjes is alleen mogelijk als een cel het GGO bevat en tegelijkertijd ook geïnfecteerd is met wildtype AAV én een helpervirus. De waarschijnlijkheid dat door recombinatie in de patiënt virussen met veranderde eigenschappen ontstaan is verwaarloosbaar klein. Er zijn geen nadelige effecten van het GGO beschreven. Derhalve is de kans op overdracht op andere soorten en de selectieve voordelen of nadelen die op deze soorten kunnen worden overgedragen verwaarloosbaar klein.

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

4. Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde milieueffecten van de directe en indirecte interacties tussen het ggo en de proefpersoon, en tussen het ggo en niet-doelwitorganismen

Expressie van de FIX sequentie heeft geen effect op het gastheerbereik, de infectiviteit of de pathogeniteit voor potentiële gastheren van het GGO (mensen en dieren) in het milieu. Het GGO is slechts tijdelijk aanwezig in de patiënt als gevolg van het replicatiedeficiënte karakter van de virale vector wegens het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Daardoor zal gedurende een korte periode productie van het FIX eiwit plaatsvinden. Er zijn geen pathogene effecten bekend die het gevolg zijn van additionele expressie van FIX. Aangezien het GGO replicatiedeficiënt is zal de virale vector tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het GGO en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein, aangezien AAV een niet pathogeen virus is en expressie van de FIX sequentie niet leidt tot schadelijke of ziekteverwekkende effecten.

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

Expressie van de FIX sequentie heeft geen effect op het gastheerbereik, de infectiviteit of de pathogeniteit voor potentiële gastheren van het GGO (mensen en dieren) in het milieu. Het GGO is slechts tijdelijk aanwezig in de patiënt als gevolg van het replicatiedeficiënte karakter van de virale vector wegens het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Daardoor zal gedurende een korte periode productie van het FIX eiwit plaatsvinden. Er geen pathogene effecten bekend die het gevolg zijn van additionele expressie van FIX. Aangezien het GGO replicatiedeficiënt is zal de virale vector tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het GGO en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein, aangezien AAV een niet pathogeen virus is en expressie van de FIX sequentie niet leidt tot schadelijke of ziekteverwekkende effecten.

6. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk

Toepassing van de vector zal niet leiden tot veranderingen in de medische praktijk die nadelige effecten hebben op mens en milieu.

7. ADVIES

De COGEM zal gelijktijdig met de publicatie van de onderhavige ontwerpbeschikking om advies worden gevraagd.

8. CONCLUSIE

Zowel voor de gebruikte AAV vector als voor de hierin gekloneerde FIX expressiecassette is geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De te gebruiken virale vector is replicatiedeficiënt en zal daardoor slechts tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. Ten gevolge hiervan kunnen derden mogelijk aan het GGO worden blootgesteld en kan zelfs infectie van derden niet op voorhand worden uitgesloten. De schadelijke effecten die dien ten gevolge kunnen optreden zullen ook dan met inachtneming van de voorgeschreven risicobeheersmaatregelen verwaarloosbaar klein zijn.

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.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Naar aanleiding van deze overwegingen, gelet op het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer alsmede op de Wet milieubeheer,

B E S L U I T:

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

- I. Aan het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam te Rotterdam een vergunning te verlenen als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer.
- II De onderhavige vergunning heeft uitsluitend betrekking op de in de aanvraag beschreven werkzaamheden met een genetisch gemodificeerd Adenovirus-geassocieerd virus, waarin een sequentie is ingebracht die codeert voor het humane factor IX eiwit (AAV5-hFIX), in de gemeente Rotterdam.
- III Aan de vergunning, waarvan de op 19 december 2014 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;
- b. COGEM: commissie genetische modificatie, ingesteld bij de Wet milieubeheer;
- c. De Staatssecretaris: De Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu, p.a. Directie Veiligheid en Risico's, Postbus 30945, 2500 GX Den Haag.
- d. AAV: *Adeno-associated Virus*;
- e. rAAV: replicatiedeficiënt recombinant *Adenovirus-geassocieerd virus*;
- f. rcAAV: replicatiecompetent *Adenovirus-geassocieerd virus*;
- g. HSV: *Herpes simplex virus*;
- h. SV40: Simian virus 40;
- i. polyA: polyadenylatie;
- j. ITR: inverted terminal repeats;
- k. *Rep*: regulatorisch gen van AAV dat de replicatie reguleert;
- l. *Cap*: structureel gen van AAV dat codeert voor het capsid eiwit;
- m. FIX: (stollings)factor IX eiwit dat circuleert in de bloedbaan en cruciaal is voor bloedstolling ;
- n. gc: genoomkopieën
- o. kg: kilogram
- p. cGMP: current Good Manufacturing Practice;
- q. ICH: International Conference on Harmonisation;
- r. Ph. Eur.: European Pharmacopeia;
- s. qPCR: kwantitatieve Polymerase-kettingreactie.

Artikel 2. Algemene voorschriften

1. Jaarlijks mogen werkzaamheden als bedoeld onder II, uitsluitend doorgang vinden:
 - 1.1. nadat aan de Staatssecretaris 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;

- 1.2. voor zover die werkzaamheden zijn beschreven in een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in artikel 3 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken nadat die beschrijving conform artikel 3 aan de Staatssecretaris is gezonden of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.
2. De vergunninghouder dient tijdens de uitvoering van de werkzaamheden als bedoeld onder II, 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 vermeld in artikel 6, eerste lid, te worden vastgelegd op welke wijze de zeggenschap wordt gegarandeerd.
3. Medewerkers die uit hoofde van hun functie betrokken zijn bij de werkzaamheden bedoeld onder II, 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 vermeld in artikel 6, eerste lid, wordt gevoegd.
4. Voor het interne toezicht op de vergunning worden één of meer milieuveiligheidsfunctionarissen aangesteld die door de Staatssecretaris van lenM zijn toegelaten. Deze functionarissen zijn deskundig voor de werkzaamheden waarvoor deze vergunning is verleend.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Artikel 3. 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 Staatssecretaris.
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 locatie de werkzaamheden van start gaan en hoeveel patiënten worden geïncubeerd.

Artikel 4. Bijzondere voorschriften

1. Patiënten dienen effectieve anticonceptie in combinatie met een barrièremiddel in acht te nemen gedurende de eerste drie maanden na behandeling of totdat drie opeenvolgende spermamonsters negatief zijn getest voor de aanwezigheid van AAV5-hFIX vector DNA.
2. De vector zal niet toegepast worden wanneer er klinische aanwijzingen zijn voor een actieve virale infectie.
3. De behandelde patiënten worden uitgesloten van donatie van bloed, cellen en weefsels.

Artikel 5. Voorschriften met betrekking tot controle

1. Iedere wijziging van gegevens zoals die met betrekking tot de vergunningaanvraag (bijvoorbeeld wijziging (in de naamgeving) van de rechtspersoon zoals vermeld in de aanvraag, wijziging van contactpersoon of milieuveiligheidsfunctionaris) of de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden zijn verstrekt, moeten in het logboek worden opgenomen en onverwijld schriftelijk aan de Staatssecretaris worden gemeld.
2. Gedurende het uitvoeren van de onder II, bedoelde werkzaamheden op de locatie moet regelmatig en doelmatig 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, zoals bedoeld in het tweede lid, die van invloed kunnen zijn op de risico's voor mens en milieu van de werkzaamheden, dienen onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Staatssecretaris gemeld te worden.
4. Iedere onvoorziene omstandigheid die de werkzaamheden betreft zoals beschreven onder II, moet onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Staatssecretaris worden gemeld.
5. Bij een schriftelijke melding kan contact opgenomen worden met het RIVM/SEC/Bureau GGO, RIVM/SEC/Bureau GGO, Antonie van Leeuwenhoeklaan 9, Postbus 1, 3720 BA Bilthoven of via (030) 274 4401. Bij een telefonische melding als bedoeld in het derde en vierde lid, kan 24 uur per dag contact opgenomen worden met het Ministerie van IenM, (070) 383 2425. Tijdens kantooruren kan ook contact opgenomen worden met het RIVM/SEC/Bureau GGO, telefoonnummer (030) 274 2793.
6. Bij een melding, als bedoeld in het derde en vierde lid, moeten aan de Staatssecretaris onverwijld de gegevens zoals gevraagd in het meldingsformulier "onvoorziene omstandigheden en afwijkingen introductie in het milieu" worden doorgegeven. Dit formulier is beschikbaar via de website <http://bggo.rivm.nl>.

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

Artikel 6. Voorschriften met betrekking tot verslaglegging

1. De vergunninghouder is verplicht van de voortgang van de werkzaamheden, als bedoeld onder II, 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 Staatssecretaris.
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 Staatssecretaris te stellen nadere eisen als bedoeld in artikel 9.2.2.3, tweede lid, van de Wet milieubeheer, betreffende de voorschriften bedoeld in de voorgaande artikelen.

NIET VERWIJDEREN BEGIN BLADWIJZER

Hier komt de officiële ondertekening van dit document.

EINDE BLADWIJZER NIET VERWIJDEREN

BESCHRIJVING VAN VOORGENOMEN WERKZAAMHEDEN

Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

1 ALGEMENE GEGEVENS

1.1 Nummer van de vergunning?

Antwoord:

1.2 Het jaar waarvoor de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden geldt?

Antwoord:

1.3 De datum waarop de eerste patiënt of proefpersoon behandeld zal worden (alleen van toepassing indien de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden betrekking heeft op het jaar van start van de studie)?

Antwoord:

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

2 BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN

2.1 Beschrijf het doel van de proef.

Antwoord:

2.2 Beschrijf de proefopzet.

Antwoord:

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 verwerpingscriteria waaraan de batch voldoet.

Antwoord:

2.4 Wat is de maximale dosis per toediening aan een patiënt of proefpersoon, en wat is de maximale cumulatieve dosis die aan een patiënt of proefpersoon in de studie toegediend wordt.

Antwoord:

2.5 Beschrijf via welke toedieningsweg(en) het GGO aan de patiënt of proefpersoon wordt toegediend.

Antwoord:

2.6 Vermeld het aantal patiënten of proefpersonen die reeds in de studie opgenomen zijn en vermeld het aantal patiënten of proefpersonen dat nog geïncludeerd zal worden in de studie.

Antwoord:

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 (patiënten of proefpersonen) materiaal afkomstig uit deze studie;
- de plaats waar het logboek kan worden ingezien.

Antwoord:

2.8 Geef de locatie (bezoekadres) waar patiënten worden behandeld en gehospitaliseerd.

Antwoord:

2.9 Beschrijf hoe gevolg wordt gegeven aan de bijzondere voorschriften bedoeld in Artikel 4 van de vergunning.

Antwoord:

2.10 Beschrijf alle, uit oogpunt van de veiligheid voor mens en milieu, te monitoren aspecten.

Antwoord:

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal**
Directie Veiligheid en
Risico's

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

3	AFVAL VERWERKING
---	------------------

3.1 Beschrijf de samenstelling van het verwachte afval.

Antwoord:

3.2 Geef de locatie waar afval wordt opgeslagen voordat het wordt afgevoerd of vernietigd.

Antwoord:

3.3 Beschrijf de wijze waarop het afval zal worden verwerkt.

Antwoord:

INHOUD LOGBOEK

Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten

**Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's**

1 ALGEMENE GEGEVENS

- 1.1** Vermeld het nummer van de vergunning.

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

2 BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN

- 2.1** **Vermeld de datum waarop de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden is gezonden aan de Staatssecretaris.**

- 2.2** Voor iedere batch:

- de datum van ontvangst;
- een kopie van de kwaliteitsgegevens;
- de actuele plaats van opslag.

- 2.3** Voor iedere geïncludeerde patiënt of proefpersoon de resultaten van tests waaruit blijkt dat de patiënt voldoet aan de in de vergunning gestelde in- en exclusiecriteria.

- Voor iedere toediening aan een patiënt of proefpersoon 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 en codering van patiënt of proefpersoon;
- 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.

- 2.4** Gegevens over hospitalisatie en beëindiging van deelname aan de studie van een patiënt of proefpersoon:

- de naam of codering van de patiënt of proefpersoon
- datum en locatie van hospitalisatie
- datum van ontslag of beëindiging van deelname aan de studie
- de tests en de resultaten op grond waarvan besloten is tot ontslag
- eventuele andere redenen voor beëindiging van de opname of deelname aan de studie.

3 VERVOER

- 3.1** Vermeld de data waarop materiaal is vervoerd buiten de instelling waar de behandeling van de patiënten of proefpersonen plaatsvindt en vermeld daarbij de hoeveelheid materiaal, het verzendadres en de wijze van verpakken. Het voorgaande geldt voor het studiemateriaal dat aan de patiënten of proefpersonen 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 patiënt of proefpersoon 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

Directoraat-generaal
Milieu en Internationaal
Directie Veiligheid en
Risico's

1 ALGEMENE GEGEVENS

1.1 Nummer van de vergunning?

Antwoord:

1.2 Jaar van verslaglegging?

Antwoord:

Ons kenmerk
IM-MV 15-001/00.bes.1

2 BESCHRIJVING VAN DE WERKZAAMHEDEN

2.1 Beschrijf de proefopzet.

Antwoord:

2.2 Beschrijf het doel van de proef.

Antwoord:

2.3 Geef de namen van de gebruikte ggo's en beschrijf kort de genetische modificatie.

Antwoord:

3 RESULTATEN

3.1 Resultaten van de verrichte werkzaamheden?

Antwoord:

3.2 Vermeld het aantal patiënten of proefpersonen dat

- in de verslagperiode nieuw is geïncludeerd;
- reeds eerder werd geïncludeerd, en dit jaar nog deelnam aan het onderzoek;
- in de toekomst nog geïncludeerd kan worden.

Antwoord:

3.3 Geef aan hoeveel patiënten dit jaar de studie hebben afgerond en hoeveel patiënten dit jaar met de studie vroegtijdig zijn gestopt waarbij aangegeven moet worden wat hiervan de reden is geweest.

Antwoord:

3.4 Beschrijf de onverwachte neveneffecten geconstateerd bij het uitvoeren van specifieke testen.

Antwoord:

3.5 Beschrijf waargenomen afwijkingen ten opzichte van de vooraf verwachte resultaten die van belang kunnen zijn voor de milieurisicobeoordeling.

Antwoord:

3.6 Beschrijf indien van toepassing de resultaten van de uitgevoerde monitoring.

Antwoord:

3.7 Beschrijf hoe gevolg is gegeven aan de bijzondere voorschriften bedoeld in Artikel 4 van de vergunning.

Antwoord:

3.8 Geef aan welke waarnemingen, die van belang zijn voor de beschreven milieurisicobeoordeling, gedaan zijn in andere vergelijkbare (inter)nationale studies.

Antwoord: