



ontwerp beschikking

PorM/RB IM 10-002

Gelezen de aanvraag van de Universiteit Utrecht, te Utrecht, van 04-02-2010, kenmerk: VenC/V&M 10.007, en de aanvullende informatie van 16-06-2010, kenmerk: VenC/V&M 10.007, van 24-06-2010, van 02-08-2010, kenmerk: VenC/V&M 10.007 en van 18-08-2010, om een vergunning als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer,

De Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer,

overwegende,

1. AANVRAAG¹

De aanvraag heeft betrekking op een studie waarin plasmide DNA wordt toegediend aan honden met uitgezaaid en uitbehandeld melanoom om de klinische effectiviteit van een behandeling met het plasmide DNA te evalueren. De werkzaamheden zijn voorgenomen plaats te vinden in de gemeente Utrecht. Het toe te passen plasmide, pING/Tyrosinase, is een gesloten circulair DNA molecuul zonder eigenschappen van een levend organisme of virus en kan als zodanig niet worden gezien als een genetisch gemodificeerd organisme (GGO).

Het plasmide wordt intramusculair toegediend met behulp van een Bioinjector. Vervolgens kunnen spiercellen het DNA opnemen. De cellen die het plasmide opgenomen hebben worden hierdoor genetisch gemodificeerd en brengen een humaan tyrosinase eiwit tot expressie. Tyrosinase katalyseert de omzetting van tyrosine naar het huidpigment melanine in huidcellen. In maligne melanoom komt het tyrosinase eveneens tot expressie. Door de expressie van het humane tyrosinase in spiercellen wordt een immuunreactie opgewekt tegen endogeen honden tyrosinase waardoor het afweersysteem maligne melanoomcellen gaat herkennen en zal verwijderen.

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, 1^e 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 òf (b) worden geweigerd.

3. PROCEDURE

De aanvraag is ontvangen d.d. 08-02-2010, aanvullende informatie is ontvangen op 21-06-2010, 29-06-2010, 03-08-2010 en 18-08-2010.

De aanvullende informatie van 16-06-2010, kenmerk: VenC/V&M 10.007 en van 24-06-2010 is door de aanvrager als vertrouwelijk gekenmerkt. Op grond van Artikel 19.3 van de Wet milieubeheer heeft de Minister van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer ingestemd met het verzoek van de aanvrager om de aanvullende informatie van 16-06-2010, kenmerk: VenC/V&M 10.007 en van 24-06-2010 vertrouwelijk te behandelen. Op 03-08-2010 heeft de aanvrager hiertoe een openbare samenvatting van de vertrouwelijke informatie geleverd waaruit de risicoanalyse navolgbaar is.

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 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 Minister van VROM 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.

4.1. Het plasmide DNA

Het plasmide dat in deze studie wordt gebruikt bestaat uit naakt DNA, het plasmide pING/Tyrosinase. Het plasmide pING/Tyrosinase is een dubbelstrengs, covalent gesloten circulair DNA molecuul van 6408 basenparen. Het DNA molecuul bezit geen eigenschappen van een levend organisme of virus en kan als zodanig niet worden gezien als een genetisch gemodificeerd organisme (GGO). Het plasmide pING/Tyrosinase bevat een ColE1 ori ('origin of replication') die ervoor zorgt dat het plasmide in bacteriën kan repliceren en gehandhaafd blijft, maar alleen in bacteriën van de familie *Enterobacteriaceae*.

4.2. Door de inserties gecodeerde genproducten (tyrosinase, kanamycine/neomycine resistentie)

In het plasmide pING/Tyrosinase bevindt zich het gen dat codeert voor het humane eiwit tyrosinase. Het tyrosinase enzym katalyseert de omzetting van tyrosine naar het huidpigment melanine in huidcellen. Door expressie van tyrosinase afkomstig van de mens in de hond wordt een specifieke afweerreactie van het immuunsysteem tegen maligne melanoomcellen opgewekt die honden tyrosinase tot expressie brengen.



Tevens is in het plasmide het gen gekloneerd dat codeert voor een eiwit dat zorgt voor resistentie tegen de antibiotica kanamycine en neomycine. Het betreft hier het npt-I gen dat afkomstig is uit *Escherichia coli*. Het gen staat in het plasmide pING/Tyrosinase onder controle van een bacteriële promotor. Hierdoor kan het product van het npt-I gen (aminoglycoside 3'-phosphotransferase) uitsluitend in bacteriën tot expressie komen.

4.3. De regulatoire virale sequenties (CMV promotor)

Expressie van het humaan tyrosinase staat onder controle van een humaan *Cytomegalovirus* immediate early (HCMV-IE) promotor sequentie. HCMV is een Herpesvirus. Infecties met deze virussen komen wereldwijd voor en vinden voornamelijk via de orale en seksuele route plaats. Met uitzondering van mensen met een slecht werkend immuunsysteem zoals pasgeborenen en transplantatiepatiënten, verlopen infecties met HCMV meestal zonder klinische symptomen. De mens is de enige gastheer voor HCMV. De HCMV sequenties in het plasmide pING/Tyrosinase zijn identiek aan de wild type HCMV sequenties.

4.4. Beschrijving van het onderzoek

Onderhavige vergunningaanvraag heeft betrekking op de studie die zal plaats vinden bij de faculteit Diergeneeskunde van de Universiteit Utrecht, in de gemeente Utrecht. Vergunning wordt gevraagd voor opslag en toedienen van een DNA vaccin, en monsternamen. Het betreft hier een studie waaraan gedurende 5 jaar maximaal 50 door eigenaren gehouden honden zullen deelnemen. In deze studie zullen honden met uitgezaaid huidmelanoom, die uitbehandeld zijn met traditionele behandelmethoden, behandeld worden met pING/Tyrosinase. Het primaire doel hierbij is om de klinische effectiviteit van DNA vaccinatie bij honden met gemetastaseerd huidmelanoom te evalueren. Beoogd wordt dat de vaccinatie een immuunrespons opwekt tegen melanoma waardoor de tumorcellen vernietigd worden. Het plasmide pING/Tyrosinase zal intramusculair in spierweefsel toegediend worden via een naaldvrij Biojector2000 systeem dat de vloeistof onder CO₂ druk inbrengt. De honden ontvangen een transdermale/intramusculaire injectie met 500 µg plasmide DNA. De dieren ontvangen met 2 wekelijkse intervallen een immunisatie tot een maximum van 4 injecties. Daarna volgt nog, afhankelijk van het ziekteverloop bij de hond, een booster injectie met intervallen van 6 maanden tot een maximum van 4 keer. Toediening vindt plaats in een dierenstal die voldoet aan de DM-II inrichtingseisen en de dieren worden behandeld door daartoe bevoegd en opgeleid personeel. Medewerkers dragen beschermende kleding en handschoenen. Plasmide dat vrijkomt in de omgeving, inclusief mogelijke vloeistof die achterblijft op de huid van de hond zal worden afgenomen, gedecontamineerd en als biologisch afval worden afgevoerd. Dieren worden in een aparte geïsoleerde ruimte behandeld en tijdens de toediening kan geen contact met andere dieren plaatsvinden. Dier eigenaren zullen tijdens de behandeling niet aanwezig zijn. Na afloop van iedere toediening gaan de honden met hun eigenaar mee naar huis.

Productie, vervoer, bemonstering en afvalbehandeling

Productie en vervoer

De productie van het plasmide vindt plaats door Merial Inc. In de Verenigde Staten en maakt geen onderdeel uit van de onderhavige vergunning. Tijdens de productie zal de batch onderhevig zijn aan diverse algemeen aanvaarde kwaliteitstesten om identiteit, zuiverheid en kwaliteit van het product te waarborgen. De batch zal worden verworpen indien niet aan de gestelde eisen van de kwaliteitscontrole testen is voldaan. De aanvrager geeft in dat verband verder aan dat de batch vrij is van bacteriële verontreiniging. Import en verdere kwaliteitsbewaking van het vaccin vindt plaats onder de verantwoordelijkheid van de apotheek van de faculteit Diergeneeskunde. De kwaliteitsbewaking vindt plaats in overleg met het college ter beoordeling van geneesmiddelen (CBG).

Monsternamen en analyse

Monsternamen (bloed) maakt deel uit van de onderhavige aanvraag. De analyse van de bloedmonsters zal plaatsvinden op het onderzoekslaboratorium met ML-I classificatie van het Departement Geneeskunde van Gezelschapdieren, te Utrecht en valt onder de IG vergunning IG 99-057. Monsteranalyse zal alleen plaatsvinden voor detectie van het plasmide DNA.

Afval

Afval wordt afgevoerd en verwerkt conform de regels die gelden voor het afvoeren van biologisch materiaal.

4.5. Interactie met het milieu

Het plasmide pING/Tyrosinase is een DNA molecuul dat geen eigenschappen van een levend organisme of virus bezit. Het plasmide kan daardoor niet in of buiten gastheercellen repliceren of gehandhaafd blijven. Vanwege de vaccinatie met het plasmide pING/Tyrosinase zal de hond een aantal genetisch



gemodificeerde cellen dragen. Indien deze cellen in het milieu vrij zouden komen hebben deze cellen echter geen overlevingskans, en het in deze cellen aanwezige DNA kan niet overgedragen worden.

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 bij de aanvraag IM 10-002". 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.

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

5.1. Algemeen

Het plasmide pING/Tyrosinase is een gesloten circulair DNA molecuul zonder eigenschappen van een levend organisme of virus en kan als zodanig niet worden gezien als een GGO. Toegediend plasmide DNA kan echter in lichaamscellen van de honden terecht komen. Er wordt daarom vanuit gegaan dat de honden na toediening een aantal genetisch gemodificeerde cellen dragen. Deze cellen zijn op zichzelf, buiten de hond, niet levensvatbaar en zullen in het milieu niet overleven.

In deze genetisch gemodificeerde cellen is het echter theoretisch mogelijk dat het plasmide pING/Tyrosinase een interactie aangaat met aanwezige virussen of virale sequenties waardoor een genetisch gemodificeerd virus ontstaat dat in een actieve overdraagbare vorm in het milieu kan terecht komen. Naakt plasmide DNA kan ook, wanneer het bijvoorbeeld tijdens de toediening in contact komt met bacteriën, worden opgenomen in bacteriën die daardoor genetisch gemodificeerd worden. Vanuit deze getransformeerde bacteriën kan bovendien overdracht plaatsvinden naar andere bacteriën. Een derde mogelijkheid tot het ontstaan van een GGO is dat het plasmide terecht komt in de kiembaan waardoor verticale transmissie kan optreden.

Bovengenoemde drie situaties, waarbij een GGO kan ontstaan dat voor verdere transmissie kan zorgen, worden verder in de milieurisicoanalyse betrokken.

5.2. Virale transmissie

In het plasmide pING/Tyrosinase is een immediate early promotor afkomstig van het HCMV virus aanwezig. HCMV is een herpesvirus en infectie met deze virussen vindt voornamelijk via de orale en seksuele route plaats, waardoor met name epitheelcellen geïnfecteerd zullen worden. Het gastheerbereik van HCMV is beperkt tot de mens. Een honden cytomegalovirus is nog nooit beschreven. In afwezigheid van een dergelijk virus in de hond kan geen recombinatie met de HCMV promotor in pING/Tyrosinase plaatsvinden. Bovendien is het zeer onwaarschijnlijk dat een interactie tussen de HCMV promotor en andere virussen in de hond kan plaatsvinden door het gebrek aan homologie met deze virussen.

Het is derhalve zeer onwaarschijnlijk dat een cel in de hond tegelijkertijd geïnfecteerd is met het plasmide pING/Tyrosinase én wild type HCMV. In het geval dit toch optreedt, kan homologe recombinatie optreden tussen wild type HCMV en de HCMV promotor sequentie in het plasmide. Aangezien de HCMV sequentie in het plasmide pING/Tyrosinase identiek is aan de wild type HCMV promotor sequentie, zal dit resulteren in uitwisseling van de promotor sequenties waardoor het ontstane virus identiek zal zijn aan wild type HCMV. Hierdoor kan gesteld worden dat de kans verwaarloosbaar klein is dat een cel tegelijkertijd geïnfecteerd is met wild type HCMV en het plasmide pING/Tyrosinase, vervolgens recombineert en dat daardoor nieuwe genetisch gemodificeerde virussen ontstaan. Op grond van deze redeneringen kan gesteld worden dat de kans op het ontstaan en het in een actieve overdraagbare vorm in het milieu terecht komen van recombinante virussen met veranderde eigenschappen ten opzichte van de wild type virussen door toepassing van het plasmide pING/Tyrosinase verwaarloosbaar klein is.

5.3. Bacteriële transmissie

In uitzonderlijke gevallen kan het plasmide pING/Tyrosinase, bijvoorbeeld op de huid, in contact komen met bacteriën. Opname van plasmide DNA door bacteriën is een inefficiënt proces. Slechts een gering deel van



de bacteriesoorten is van nature instaat (competent) om DNA op te nemen onder bepaalde condities. Genen in bacteriën die zorgen voor competentie komen vaak maar tijdelijk tot expressie en worden sterk gecontroleerd door milieu omstandigheden. Indien bacteriën het plasmide hebben opgenomen is replicatie en handhaving van het plasmide alleen mogelijk in bepaalde soorten bacteriën. Het plasmide bezit namelijk een ColE1 ori voor replicatie, waardoor alleen bacteriën van de familie *Enterobacteriaceae* in staat zijn om replicatie van het plasmide DNA middels de ColE1 ori te faciliteren. Deze enterobacteria komen normaal gesproken uitsluitend in de darm voor. Gezien de wijze van toediening is het plasmide DNA transient aanwezig in spiercellen en mogelijk enige huidcellen op de plaats van injectie. Plasmide DNA dat in het bloed of via in het bloed in de darm terechtkomt zal worden afgebroken door nucleases. In het onwaarschijnlijke geval dat het plasmide in contact komt met bacteriën uit de darm, dan levert de opname van het plasmide in afwezigheid van kanamycine of neomycine geen enkel groeivoordeel op voor deze bacteriën als het dier niet wordt behandeld met deze antibiotica. Op grond van bovengenoemde argumenten, is de waarschijnlijkheid dat het plasmide DNA daadwerkelijk opgenomen wordt door een bacterie die tevens het plasmide kan handhaven en repliceren verwaarloosbaar klein. Het kanamycine resistentie gen (npt-I) in het plasmide pING/Tyrosinase kan alleen tot expressie komen in bacteriën. De mogelijke gevolgen van overdracht van het kanamycine resistentie gen zijn niet aan de orde aangezien de kans dat het plasmide pING/Tyrosinase door bacteriën wordt opgenomen en gehandhaafd blijft verwaarloosbaar klein is.

5.4. Kiembaantransmissie

Er zijn geen redenen om aan te nemen dat transmissie van het plasmide DNA via de kiembaan (geslachtscellen) zal plaatsvinden. Gezien de wijze van toediening is het plasmide DNA transient aanwezig in spiercellen en mogelijk enige huidcellen op de plaats van injectie. Plasmide DNA dat in het bloed terechtkomt zal worden afgebroken door nucleases. De kans dat het geïnjecteerd plasmide DNA de kiembaancellen kan bereiken en er vervolgens kiembaanoverdracht (verticale transmissie) optreedt is verwaarloosbaar klein. Bovendien is kiembaantransmissie van plasmide DNA bij soortgelijke toepassingen nooit eerder beschreven.

5.5. Schatting van het risico

Het plasmide pING/Tyrosinase is een DNA molecuul zonder eigenschappen van een levend organisme of virus en kan als zodanig niet worden gezien als een GGO. Het plasmide kan na toediening in lichaamscellen terechtkomen waardoor deze genetisch gemodificeerd zijn. De getransformeerde cellen zelf kunnen buiten de hond niet overleven. In eerdere studies die zijn uitgevoerd met het pING/Tyrosinase plasmide in de hond of met andere veelvuldig toegepaste plasmiden met de HCMV promotor in mens en dier zijn nooit gevallen van recombinitie gerapporteerd. De kans dat het in het plasmide aanwezige genetisch materiaal in een overdraagbare vorm in het milieu terecht komt door interactie met een virus of bacterie, of via kiembaantransmissie is verwaarloosbaar klein. Mogelijke nadelige gevolgen van de in het plasmide aanwezige genen zijn daardoor niet van invloed op het algehele risico. Gezien de veilige toepassing van humaan tyrosinase door vaccinatie in meer dan 6000 honden en het feit dat een humaan tyrosinase wordt toegepast zijn bovendien geen nadelige gevolgen van de insertie op mens en milieu te verwachten. Gezien de bovenstaande overwegingen wordt het algehele risico van de toepassing van het plasmide pING/Tyrosinase geschat op verwaarloosbaar klein.

5.6. Maatregelen voor risicobeheer

Aangezien de milieurisico's van de toepassing van pING/Tyrosinase verwaarloosbaar klein zijn, is het voorschrijven van risicobeheersingsmaatregelen uit oogpunt van milieuveiligheid niet noodzakelijk.



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

De waarschijnlijkheid dat het plasmide pING/Tyrosinase persistent en invasief wordt is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO (een genetisch gemodificeerde hondcel) dat zelf persistente of invasieve eigenschappen heeft. De kans op transmissie van het plasmide door bacteriën, het ontstaan van recombinante virussen, of transmissie van het plasmide via de kiembaan is verwaarloosbaar klein.

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 plasmide pING/Tyrosinase is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf selectieve voordelen of nadelen heeft. De kans op transmissie van het plasmide door bacteriën, het ontstaan van recombinante virussen, of transmissie van het plasmide via de kiembaan 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 overdracht op andere soorten bij toepassing van het plasmide pING/Tyrosinase is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf in een actieve overdraagbare vorm in het milieu terecht komt. De kans op transmissie van het plasmide door bacteriën, het ontstaan van recombinante virussen, of transmissie van het plasmide via de kiembaan is verwaarloosbaar klein.

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

De waarschijnlijkheid van milieueffecten op doelwitorganismen bij toepassing van het plasmide pING/Tyrosinase is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat in een actieve overdraagbare vorm in het milieu terecht komt. De cellen in de hond die genetisch gemodificeerd worden door opname van het plasmide DNA zijn op zichzelf, buiten de hond, niet levensvatbaar en zullen niet in het milieu overleven. De kans dat transmissie van het plasmide door bacteriën, het ontstaan van recombinante virussen, of transmissie van het plasmide via de kiembaan optreedt is verwaarloosbaar klein.

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 plasmide pING/Tyrosinase is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf nadelige effecten op de menselijke gezondheid teweegbrengt. De kans dat transmissie van het plasmide door bacteriën, het ontstaan van recombinante virussen, of transmissie van het plasmide via de kiembaan optreedt is verwaarloosbaar klein.

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 plasmide pING/Tyrosinase zal niet in de voeder/voedselketen opgenomen worden. Effecten op de voeder/voedselketen als gevolg van consumptie zijn dan ook niet aan de orde.

7. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk

De waarschijnlijkheid van verandering in de staande medische praktijk effecten bij toepassing van het plasmide pING/Tyrosinase is verwaarloosbaar klein, omdat het plasmide DNA niet zal leiden tot het ontstaan van een GGO dat zelf invloed heeft op de staande medische praktijk. De toegepaste methode van vaccinatie met xenogenetisch DNA kan leiden tot een verandering van de behandeling van melanoma bij honden. Hieraan zijn geen nadelige gevolgen voor het milieu verbonden.



7. ADVIES

Bij het opstellen van de ontwerpbesluiting is onder andere gebruik gemaakt van het algemene COGEM advies van 24 december 2004 (CGM/041223-02), waarin de COGEM adviseert over de risico's van naakt DNA bij toepassing in mensen en dieren. De COGEM zal gelijktijdig met de publicatie van de onderhavige ontwerpbesluiting om advies worden gevraagd.

8. CONCLUSIE

Het plasmide pING/Tyrosinase is een DNA molecuul zonder eigenschappen van een levend organisme of virus en kan als zodanig niet worden gezien als een GGO. Na toediening in de honden kan het plasmide DNA terechtkomen in lichaamscellen. Hierdoor draagt de hond een aantal genetisch gemodificeerde cellen. Deze cellen zijn buiten de hond niet levensvatbaar en zullen niet in het milieu overleven. In de genetisch gemodificeerde cellen is het theoretisch mogelijk dat het plasmide pING/Tyrosinase een interactie aangaat met aanwezige virussen of virale sequenties waardoor een genetisch gemodificeerd virus ontstaat. De kans hierop is echter verwaarloosbaar klein. De kans dat het plasmide pING/Tyrosinase opgenomen wordt door bacteriën die vervolgens replicatie van het plasmide kunnen faciliteren is verwaarloosbaar klein. Tot slot is de kans op het optreden van kiembaanoverdracht (verticale transmissie) verwaarloosbaar klein.

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 alsmede op de Wet milieubeheer,

B E S L U I T:

- I Aan de Universiteit Utrecht te Utrecht een vergunning te verlenen als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer.

- II Aan de vergunning, waarvan de op 08-02-2010 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. 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 plasmide pING/Tyrosinase, in de gemeente Utrecht.
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: IM 10-002
- 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. IM 10-002

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 geïnccludeerd 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 en 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: IM 10-002
- 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: