

Aan de staatssecretaris  
van Infrastructuur en Milieu  
Mevrouw W.J. Mansveld  
Postbus 30945  
2500 GX Den Haag

**DATUM** 15 juli 2013  
**KENMERK** CGM/130715-01  
**ONDERWERP** Advies: Aanvullende informatie over SAE in klinische studie met CRAd

Geachte mevrouw Mansveld,

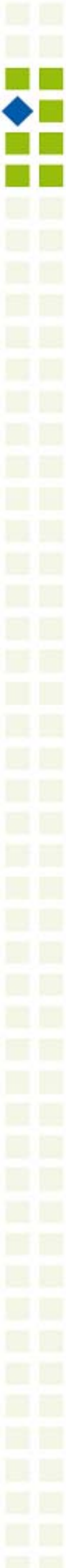
De COGEM is gevraagd te adviseren over de eventuele milieurisico's van een bijwerking, die is waargenomen in de klinische studie met een conditioneel replicerende adenovirusvector in patiënten met een hersentumor.

**Samenvatting:**

In een fase I/II klinische studie met genetisch gemodificeerde (gg-)adenovirussen bij patiënten met een hersentumor is een ernstige bijwerking (SAE) waargenomen. Enkele weken na de behandeling met de virusvector kreeg de betreffende patiënt last van een hersenvliesontsteking waardoor de druk in het hoofd toenam. Door de toegenomen druk zijn de hoofdwonden opengegaan en is gedurende enkele dagen hersenvocht met viraal DNA uitgescheiden. Uit de aanvullende informatie blijkt dit DNA afkomstig van de toegepaste virusvector. In het uitgescheiden wondvocht zijn echter geen infectieuze virusdeeltjes aangetroffen. Er zijn geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van wildtype adenovirus of nieuwe recombinanten. De wond is in de thuissituatie behandeld met inachtneming van eerder geadviseerde voorzorgsmaatregelen en het verband is in een chlooroplossing gedesinfecteerd.

Op basis van de aanvullende informatie acht de COGEM de kans zeer klein dat er infectieus adenovirusvector in het hersenvocht aanwezig was. Ook de kans dat naast hiermee in aanraking zijn gekomen, acht de COGEM zeer klein. Samen met het feit dat in het hersenvocht alleen DNA is aangetroffen van de toegepaste adenovirusvector en gezien de aard van deze adenovirusvector is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu ten gevolge van gemelde SAE verwaarloosbaar klein zijn geweest.

Naar aanleiding van deze gebeurtenis signaleert de COGEM nog het volgende. In het belang van de patiënt en van de milieuveiligheid moet elke relevante analyse van patiëntmateriaal uitgevoerd kunnen worden. De COGEM signaleert de noodzaak om voorafgaand aan een klinische studie met ggo's na te gaan in hoeverre de aanvrager of samenwerkingspartner over de benodigde faciliteiten cq. IG vergunningen beschikt om patiëntmateriaal te kunnen analyseren bij onverwachte gebeurtenissen. Tevens wijst zij op het belang dat de verkregen kennis beschikbaar komt voor de risicobeoordeling van toekomstige klinische studies.



De door de COGEM gehanteerde overwegingen en het hieruit voortvloeiende advies treft u hierbij aan als bijlage.

Hoogachtend,



Prof. dr. ir. Bastiaan C.J. Zoeteman  
Voorzitter COGEM

c.c. Drs. H.P. de Wijs, Hoofd Bureau ggo  
Dr. I. van der Leij, Ministerie van IenM

**Aanvullende informatie over bijwerking in klinische studie  
met conditioneel replicerende adenovirusvector  
COGEM Advies CGM/130715-01**

**Inleiding**

De COGEM is gevraagd te adviseren over eventuele milieurisico's ten gevolge van een ernstige bijwerking (SAE), die is waargenomen in de klinische studie met de conditioneel replicerende adenovirusvector, Ad5-Delta24-RGD in patiënten met een hersentumor. De melding betreft een patiënt die twee weken na de behandeling symptomen van meningitis kreeg, waarbij lekkage van de hoofdwonden optrad en adenovirus (DNA) werd uitgescheiden. In reactie op het eerdere COGEM advies over deze SAE heeft de vergunninghouder aanvullende informatie aangeleverd.

**De adenovirusvector**

De klinische studie betreft een fase I/II studie waarin gebruik wordt gemaakt van een gg-adenovirusvector. Deze adenovirusvector is ten opzichte van een wildtype adenovirus op twee punten aangepast. De eerste modificatie betreft een toevoeging van een RGD-motief aan de eiwitstructuur die betrokken is bij de binding van het virus aan de gastheer cel. Door de toevoeging van het RGD-motief wordt het tropisme van het virus uitgebreid en is de adenovirusvector in staat cellen met zogenaamde integrine-moleculen op het oppervlak, waaronder de beoogde hersentumorcellen, effectief te infecteren. De tweede modificatie betreft een deletie van 24 basen uit het adenovirale E1A gen. Hierdoor wordt efficiënte replicatie van deze vector beperkt tot snel delende tumorcellen. Door replicatie van de adenovirusvector zullen de tumorcellen lyseren, wat de tumor zou moeten doen verdwijnen. Niet delende (normale) cellen kunnen wel geïnfecteerd worden, maar in deze cellen vindt geen replicatie plaats.

**Melding van ernstige bijwerking**

In deze klinische studie wordt de adenovirusvector gedurende 50-68 uur met behulp van katheters in de tumor of in het met tumorcellen geïnfiltrateerde hersenweefsel toegediend. Na afloop worden de katheters verwijderd en de wonden gehecht en afgeplakt met vocht bestendig verband. De wonden worden vervolgens iedere twee uur gecontroleerd op lekkage. Als gedurende drie opeenvolgende inspecties de wonden geen vocht afscheiden, kan de patiënt uit de isolatiekamer overgebracht worden naar een éénpersoonskamer met druppelisolatie. De patiënt wordt in de eerste week dagelijks getest op shedding van het virus uit excreta en secreta. Voor bemonstering van het hersenvocht is subcutaan op het hoofd een Rickham reservoir aangebracht. Als de excreta en secreta monsters gedurende drie opeenvolgende dagen negatief zijn, kan de patiënt naar huis gaan of op een standaard verpleegafdeling verder worden verzorgd.

Onlangs heeft de vergunninghouder een ernstige bijwerking gemeld die twee weken na de toediening van de adenovirusvector optrad. De betreffende patiënt is 4 dagen na de start van de behandeling ontslagen uit het ziekenhuis en de hoofdwondjes waren op dat moment dicht. Anderhalve week later kreeg de patiënt echter enige lekkage uit de hoofdwonden en vertoonde de patiënt symptomen die aanvankelijk wezen op een bacteriële meningitis. De wonden zijn in de thuissituatie verbonden en overgehecht, en tevens is antibiotica voorgeschreven. Ondanks de behandeling bleven

de wonden hersenvocht (liquor) lekken, waardoor de patiënt op de vierde dag na het begin van de lekkage weer is opgenomen in het ziekenhuis. Acht dagen na de opname in het ziekenhuis waren de meningitisverschijnselen verdwenen en bleef de wond droog.

### **Eerder COGEM advies**

#### *COGEM adviezen bij de vergunningaanvraag van de klinische studie*

De COGEM heeft drie keer geadviseerd over de vergunningaanvraag voor deze klinische studie. In het eerste advies heeft de COGEM aangegeven, dat zij van mening was dat het ggo verzwakt is ten opzichte van het oudervirus.<sup>1</sup> Na toediening kon echter niet uitgesloten worden dat het ggo zich vanuit de hersenen zou verspreiden naar andere delen van het lichaam en via lichaamsvloeistoffen uitgescheiden zou worden. In het 'worst case' scenario zou recombinatie van het ggo met een wildtype adenovirus kunnen leiden tot een virus met een normaal (wildtype) replicatieprofiel en een vergroot celtropisme.

Om de risico's van deze klinische studie te beperken heeft de COGEM geadviseerd verschillende risicomangementmaatregelen toe te passen. Mede vanwege de mogelijkheid dat een patiënt het ziekenhuis voor beëindiging van het experiment zou kunnen verlaten, achtte de COGEM de risico's van de klinische studie aanvankelijk echter niet verwaarloosbaar klein.

Op basis van dit eerste advies heeft de aanvrager de conditie van de te includeren patiënten, de kans dat zij het ziekenhuis voortijdig verlaten en het handhaven van inperkingmaatregelen in een andere omgeving (thuis) dan het ziekenhuis nader toegelicht. Op basis van deze aanvullende informatie achtte de COGEM, in haar tweede advies de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein, en adviseerde zij positief over de vergunningaanvraag.<sup>2</sup>

In een later stadium heeft de aanvrager verzocht de periode, die de patiënt in een isolatiekamer moest verblijven, in te mogen korten. De COGEM heeft daarmee ingestemd mits de wonden na drie opeenvolgende inspecties geen vocht afscheidde.<sup>3</sup>

#### *COGEM advies over milieurisico's ten gevolge van SAE bij klinische studie*

Na melding van de ernstige bijwerking door de vergunninghouder heeft de COGEM in haar advies hierover aangegeven dat de aangeleverde informatie met het oog op de milieurisicobeoordeling een aantal vragen onbeantwoord liet.<sup>4</sup> Dit betrof het ontbreken van een conclusie over de oorzaak van de meningitis, de informatie over de toegediende dosis van de virusvector, de aard van het uitgescheiden virus DNA en de infectieuze titer van het uitgescheiden virus. Tevens was het onduidelijk in hoeverre de voorzorgsmaatregelen waren nageleefd die eventuele milieurisico's moeten minimaliseren in het geval een patiënt in de thuissituatie verpleegd wordt. Deze aspecten zijn van invloed op de uitkomst van de beoordeling van eventuele milieurisico's die ten gevolge van genoemde bijwerking kunnen zijn ontstaan. Voordat zij de eventuele milieurisico's kon beoordelen, achtte de COGEM aanvullende informatie hieromtrent noodzakelijk

### **Overweging en advies**

#### *Beoordeling van milieurisico's ten gevolge van SAE*

In de aanvullende informatie heeft de vergunninghouder aangegeven dat de betreffende patiënt een dosis van  $3 \times 10^{10}$  virusdeeltjes toegediend heeft gekregen. Dit betrof de op een na hoogste dosis in de geplande reeks en was op dat moment de hoogste dosis die in de studie was gebruikt. De hoofdwonden zijn twee weken na toediening van de adenovirusvector open gegaan en liquor gaan lekken. Volgens

de vergunninghouder werd dit veroorzaakt door een verhoogde liquordruk die is ontstaan door liquorresorptiestoornis bij gelijkblijvende liquoraanmaak. Een dergelijke stoornis is niet ongebruikelijk bij een bacteriële meningitis, maar kan ook ten gevolge van een virale meningitis optreden. Omdat de liquor mogelijk ggo bevatte en de vergunninghouder niet over de noodzakelijke labfaciliteiten met een ggo-vergunning beschikt, kon hij geen bacteriekweek van de liquor laten uitvoeren. Om inzicht te krijgen in de mogelijke oorzaak van de meningitis is een PCR analyse uitgevoerd op de aanwezigheid van bacterieel DNA in de liquor. Uit deze test bleek dat de liquor geen bacterieel DNA bevatte.

Volgens de vergunninghouder was in de liquor wel viraal DNA aanwezig. In het liquor monster dat de dag voor de melding van lekkage via het Rickham reservoir was afgenomen, werd met behulp van PCR een adenovirustiter bepaald die overeenkomt met  $3 \times 10^8$  virale genoomkopieën in het totale liquor. Het uitgescheiden virus DNA was positief voor de RGD-epitop coderende sequentie en bevatte het E1 domein met een deletie van 24 basen. Beide eigenschappen zijn kenmerkend voor de toegediende adenovirusvector. Virus DNA met het wildtype E1 gebied werd niet in de liquor aangetroffen.

De concentratie infectieuze virusdeeltjes in de liquor heeft de vergunninghouder onderzocht met behulp van een infectieassay op permissieve cellen gevolgd door een immunocytochemische kleuring van het adenovirale hexon eiwit. Op basis van resultaten uit deze assay concludeert de vergunninghouder dat een dag voor de start van de lekkage geen infectieuze virusdeeltjes in de liquor aanwezig zijn. Hetzelfde resultaat werd verkregen met een liquormonster dat een week na de start van de lekkage was afgenomen.

In de thuissituatie is het materiaal en verband dat mogelijk in contact is geweest met de adenovirusvector gedesinfecteerd met een chlooroplossing en in een dichte zak afgevoerd. Daarnaast blijkt de huisarts bij verzorging van de wond eerder geadviseerde voorzorgsmaatregelen als beschermende kleding, mondkap, handschoenen en bril in acht te hebben genomen en gebruik te hebben gemaakt van disposabels. De patiënt is met eigen vervoer naar het ziekenhuis gebracht.

Op basis van de aangeleverde informatie acht de COGEM de kans klein dat een bacteriële infectie de meningitis heeft veroorzaakt. Er werd geen viraal DNA aangetroffen dat afkomstig is van wildtype adenovirus. Alleen DNA dat gelijk is aan dat van de toegediende adenovirusvector kon worden aangetoond. De concentratie genoomkopieën die in de liquor is aangetroffen was bovendien relatief hoog. De COGEM is derhalve van mening dat de meningitis hoogstwaarschijnlijk geassocieerd is met de aanwezigheid van de toegediende adenovirusvector. Dit oorzakelijke verband is echter niet onomstotelijk aangetoond, waardoor zij de oorzaak van de meningitis niet met zekerheid kan vaststellen.

Ondanks het grote aantal genoomkopieën van de adenovirusvector in de liquor, heeft de vergunninghouder geen infectieuze virusdeeltjes in de liquor aan kunnen tonen. De vergunninghouder beschikt over de protocollen en expertise om een dergelijke assay correct uit te voeren.<sup>5,6,7</sup> Uit de aangeleverde informatie is het echter niet precies duidelijk op welke wijze de infectie van eventueel aanwezige adenovirusdeeltjes op permissieve cellen is uitgevoerd, welke controles daarbij zijn gebuikt en wat de detectielimiet van de gebruikte assay is. Op basis van de aanwezige informatie acht de COGEM de kans zeer klein dat er infectieus adenovirusvector in de liquor aanwezig is geweest. Gezien de onzekerheid over de technische specificaties van de assay kan zij echter niet geheel uitsluiten dat er mogelijk kleine hoeveelheden infectieus virus zijn uitgescheiden.

Het uitgescheiden hersenvocht is opgevangen door het aangebrachte verband en het verband is in een chlooroplossing gedesinfecteerd. Tevens zijn in de thuissituatie bij het hechten van de wonden de geadviseerde voorzorgsmaatregelen nageleefd. Bovendien is de patiënt in de eigen auto naar het ziekenhuis vervoerd. De COGEM acht de kans dat de virusvector in het milieu terecht is gekomen derhalve zeer klein. Zij kan echter niet geheel uitsluiten dat naasten in aanraking zijn gekomen met de uitgescheiden virusvector.

Op basis van bovengenoemde zeer kleine kans op aanwezigheid van infectieus vectordeeltjes in het uitgescheiden hersenvocht, de zeer kleine kans dat derden in aanraking zijn gekomen met het hersenvocht, er alleen DNA is aangetroffen van de toegepaste adenovirusvector en gezien de aard van deze adenovirusvector is de COGEM van mening dat de risico's voor mens en milieu ten gevolge van gemelde SAE verwaarloosbaar klein zijn geweest.

#### *Aanpassingen van het protocol voor fase II van betreffende klinische studie*

Onderhavige klinische studie bestaat uit twee delen. Het eerste gedeelte, de zogenaamde fase I is een dosis escalatie onderzoek, waarin onder andere wordt gekeken naar de maximaal verdraagbare dosis en de optimale dosis voor vervolgonderzoek. Naar aanleiding van de SAE heeft de vergunninghouder besloten de laatste geplande cohort met de hoogste virusdosis niet ten uitvoer te brengen en het fase I onderzoek te beëindigen. Het tweede deel van deze studie, het zogenaamde fase II onderzoek wil hij gaan uitvoeren met een dosis die lager is dan de dosis waarbij de SAE is waargenomen. Tevens stelt hij naar aanleiding van de SAE een wijziging van het protocol voor. Om de inperkende maatregelen in geval van lekkage van de hoofdwonden in de thuissituatie te optimaliseren, zal iedere patiënt een verband- en beschermingspakket meekrijgen. Tevens wordt iedere patiënt en diens naaste(n) geïnstrueerd hoe te handelen bij wondlekkage, zodat verspreiding van de adenovirusvector naar mens of milieu wordt beperkt. Om mogelijke milieurisico's ten gevolge van een SAE nog verder te minimaliseren, acht de COGEM het van belang dat de patiënt bij melding van wondlekkage direct op wordt genomen in het ziekenhuis. Onder naleving van deze aanvullende voorwaarden en werkvoorschriften acht de COGEM de milieurisico's verbonden aan de fase II van deze klinische studie verwaarloosbaar klein.

#### **Signalering**

Bij de SAE melding heeft de vergunninghouder aangegeven dat er geen bacteriekweek van de liquor kon worden uitgevoerd doordat het patiëntmateriaal potentieel gecontamineerd was met het ggo en de labfaciliteit niet over de benodigde vergunning beschikte. De COGEM wijst erop dat zich in klinische studies onvoorziene situaties kunnen voordoen. In het geval van klinische studies met ggo's kunnen hierdoor medisch-noodzakelijke analyses vereist zijn, die buiten het protocol vallen en waarvoor de uitvoerder niet over de benodigde IG vergunning beschikt. Dit kan de behandelend arts voor een dilemma plaatsen.

De COGEM signaleert dat het zowel voor de veiligheid van de patiënt als voor de veiligheid van mens en milieu belangrijk is dat relevante analyses van patiëntmateriaal uitgevoerd kunnen worden. De COGEM is van mening dat voorafgaand aan een klinische studie met ggo's na gegaan moet worden in hoeverre de aanvrager of een samenwerkende derde partij over de benodigde faciliteiten cq. IG vergunningen beschikt om patiëntmateriaal te kunnen analyseren.

Onderhavige studie is de eerste klinische studie in Nederland met conditioneel replicerende adenovirusvectoren. Gegevens uit deze studie over onder andere concentratieverloop en moleculaire stabiliteit van de toegepaste adenovirusvector en de waargenomen klinische symptomen kunnen behulpzaam zijn bij de beoordeling van zowel patiënt- als milieuveiligheid van toekomstige klinische studies. De COGEM signaleert dat het wenselijk is als dergelijke gegevens met de betrokken risicobeoordelaars worden gedeeld.

## Referenties

---

- 1 COGEM (2009). Klinische studie met een conditioneel-replicerende adenovirale vector. Advies CGM/090429-04
- 2 COGEM (2009). Aanvullende informatie over een klinische studie met adenovirussen. Advies CGM/091021-02
- 3 COGEM (2011). Verzoek tot wijziging vergunning fase I/II klinische studie met conditioneel-replicerende adenovirussen. Advies CGM/110112-01
- 4 COGEM (2013). Beoordeling van milieurisico's ten gevolge van bijwerking in klinische studie met conditioneel replicerende adenovirusvector. Advies CGM/130410-01
- 5 Beusechem van VW *et al.* (2002). Efficient and selective gene transfer into primary human brain tumors by using single-chain antibody-targeted adenoviral vectors with native tropism abolished. *J Vir* 76: 2753-66
- 6 Dirven CM *et al.* (2002). Gene therapy for meningioma: improved gene delivery wit targeted adenoviruses *J Neurosurg* 97:441-9
- 7 Lamfers LML *et al.* (2007). Differential effects of combined Ad5- $\Delta$ 24RGD and radiation therapy in *in vitro* versus *in vivo* models of malignant glioma. *Clin Cancer Res* 13: 7451-8