

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

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

RIVM/SEC/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

Beschikking IM 12-002

Gelezen de aanvraag van het Erasmus Universitair Medisch Centrum, te Rotterdam, van 06-02-2012, kenmerk: 2012-02-06_LG, en de aanvullende informatie van 05-04-2012, kenmerk: 2012-02-06_LG en van 07-05-2012, kenmerk: 2012-05-07_LG, om een vergunning als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer,

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

Uw kenmerk

Bijlage(n)

De Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu,

overwegende,

1. **AANVRAAG**¹

De aanvraag heeft betrekking op een fase I klinische studie waarin een conditioneel replicerende adenovirale vector wordt toegediend aan patiënten met prostaatkanker. Een conditioneel replicerende vector is een vector die zich slechts onder bepaalde omstandigheden kan vermenigvuldigen. Doel van de studie is het ontwikkelen van een nieuw oncolytisch adenovirus als adjuvant (ondersteunende) therapie naast radicale prostatectomie voor de verbetering van de behandeling van mannen gediagnosticeerd met lokale prostaatkanker. De werkzaamheden zijn voorgenomen plaats te vinden in de gemeente Rotterdam.

In Nederland is prostaatkanker één van de meest voorkomende maligniteiten in mannen. In de meeste mannen die worden gediagnosticeerd met prostaatkanker is de tumor nog uitsluitend gelokaliseerd in de prostaat (gelokaliseerde prostaatkanker). Gelokaliseerde prostaatkanker wordt primair behandeld door chirurgische verwijdering van de gehele prostaat (radicale prostatectomie). Deze behandeling faalt echter in een substantieel aantal patiënten, resulterend in groei en fatale metastase (uitzaaiing) van de tumor. Er is daarom behoefte aan het verbeteren van de werkzaamheid van radicale prostatectomie.

In de onderhavige klinische studie zal als primair doel de veiligheid en toereikbaarheid van het oncolytische adenovirus Ad[1/PPT-E1A] als adjuvant therapie voor gelokaliseerde prostaatkanker worden bestudeerd. Deze virale vector is een humaan verkoudheidsvirus waarvan de replicatie wordt gecontroleerd door een prostaat-

¹Voor definities van gebruikte begrippen zie artikel 1 van de vergunning.

specifiek regulatorisch element. Door deze prostaat-selectieve replicatie kan Ad[1/PPT-E1A] uitsluitend prostaatcellen vernietigen. In de studie zullen patiënten met lokale prostaatkanker ongeveer drie weken voor radicale prostatectomie worden behandeld met Ad[1/PPT-E1A]. Injectie van het virus in de prostaat zal plaatsvinden onder visuele controle door echografie. Het effect op de prostaat en het immuunsysteem van de patiënt zal worden bestudeerd.

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

2. BEOORDELINGSKADER

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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 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. 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. 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.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.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 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. PROCEDURE

De aanvraag is ontvangen d.d. 10-02-2012. De aanvraag en de aanvullende informatie zijn getoetst aan de vereisten zoals genoemd in artikel 24 van het Besluit ggo en voldoen daaraan.

Een deel van bijlagen bij de aanvraag van 06-02-2012 is door de aanvrager als vertrouwelijk gekenmerkt. Op grond van Artikel 19.3 van de Wet milieubeheer heeft de Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu ingestemd met het verzoek van de aanvrager om deze bijlagen vertrouwelijk te behandelen. Bij de aanvraag heeft de

aanvrager al een openbare samenvatting van deze 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 IenM, EL&I 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 van IenM opgestelde ontwerpbeschikking.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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

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

4.1. Gastheerorganisme (Ad5 met deletie van E1A, E1B en E3 genen)

Algemeen:

De virale vector die in de studie wordt gebruikt is afgeleid van humaan adenovirus subgenus C, serotype 5 (Ad5). Dit virus behoort tot de genus *Mastadenovirus* van de familie *Adenoviridae*. Adenovirussen hebben een dubbelstrengs DNA genoom van totaal 36 kb. Ten opzichte van wildtype adenovirus zijn in de uitgangsvector de E1A, E1B en E3 genen van Ad5 gedeleteerd. Alle overige functies van Ad5 zijn behouden. Het E1A gen is essentieel voor de replicatie van het virus. Het E1B gen bevordert replicatie van het virus door het voorkomen van premature celdood van geïnfecteerde cellen (door premature celdood kan geen efficiënte replicatie van het virus optreden). De E3 genen zijn betrokken bij het onderdrukken van de immuunrespons van de gastheer en het bevorderen van de verspreiding van het virus vanuit geïnfecteerde cellen.

Infectie, replicatie en uitscheiding

Ad5 komt van nature alleen voor bij de mens en is niet in staat om in de natuur op een efficiënte wijze andere organismen dan de mens te infecteren. Ad5 infecteert voornamelijk epitheelcellen van de longen en kan verkoudheid veroorzaken door infectie van slijmvliezen en lymfeklieren in de luchtwegen. Een infectie met Ad5 verloopt meestal asymptomatisch of met milde verkoudheidsverschijnselen waarvoor in de meeste gevallen geen medische behandeling noodzakelijk is. Infecties met Ad5 komen bij mensen veel voor, het merendeel van de volwassenen beschikt over antilichamen tegen Ad5. Ad5 verspreidt zich voornamelijk via aërosolen en kan aanwezig zijn in excreta en secreta, zoals speeksel, feces en urine. Infectie van humane cellen door Ad5 treedt op door binding van het fiber eiwit van Ad5 aan de coxsackie- en adenovirus receptor (CAR) die op epitheliale cellen tot expressie komt. De deleties van de E1A, E1B en E3 genen in de uitgangsvector leiden tot een sterk verzwakt virus dat niet meer in staat is om te repliceren en dat gemakkelijker door het immuunsysteem kan worden herkend en vernietigd. Als gevolg hiervan is de uitgangsvector verminderd pathogeen ten opzichte van wildtype Ad5. Het adenovirale fiber eiwit is in de uitgangsvector normaal aanwezig. De deleties in de uitgangsvector hebben derhalve geen invloed op het gastheerbereik, gastheerspecificiteit (mens) of cel- en weefseltropisme (epitheelcellen van de longen) ten opzichte van wildtype Ad5.

4.2. De insertie (E1A sequentie van Adenovirus serotype 2)

De insertie bestaat uit het E1A gen van adenovirus serotype 2 (Ad2). Expressie van het E1A gen is essentieel voor replicatie van adenovirussen. E1A gaat een interactie aan met verschillende eiwitten in de gastheercel zoals regulatoire eiwitten, eiwitten betrokken bij chromatine remodellering en transcriptiefactoren en stimuleert op deze manier transcriptie van adenovirale genen en replicatie van het virus. Er zijn geen functionele verschillen bekend tussen de E1A transcripten van verschillende adenovirus serotypen. Het geïnserteerde E1A gen van Ad2 is functioneel dus volledig vergelijkbaar met het verwijderde E1A gen van Ad5. Expressie van E1A staat onder controle van een prostaat-specifieke regulatoire sequentie. Deze prostaat-specifieke regulatoire sequentie (I/PPT) bestaat uit de H19 insulator (I), afkomstig van de muis, en drie humane prostaat-specifieke regulatoire elementen: de prostaat specifieke antigen (PSA) enhancer, de prostaat specifieke membraan antigen (PSMA) enhancer en de T-cell receptor gamma-chain alternate reading frame protein (TARP) promotor (tezamen PPT). De insulator beschermt de regulatoire PPT sequentie tegen de invloed van interfererende adenovirale sequenties aanwezig in de Ad5 virale vector. Door de aanwezigheid van de I/PPT-E1A sequentie kan het GGO, in tegenstelling tot wildtype Ad5 dat zich in alle humane epitheliale cellen kan vermenigvuldigen, uitsluitend in geïnfekteerde prostaatkernen repliceren. Daarbij komt dat het GGO vanwege de deletie van de E3 genen gemakkelijker door het immuunsysteem herkend kan worden en vanwege de deletie van het E1B gen minder efficiënt in de prostaat kan repliceren doordat in afwezigheid van het E1B gen premature geprogrammeerde celdood van geïnfekteerde cellen niet kan worden voorkomen. Hierdoor heeft het GGO een verminderde virulentie en pathogeniteit ten opzichte van wildtype Ad5.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

4.3. Het ggo

Constructie

Het GGO is vervaardigd met behulp van het AdEasy systeem. Door homologe recombinatie in bacteriën is de I/PPT-E1A sequentie van de pShuttle vector naar de pAdEasy-1 vector (deze vector bevat een Ad5 genoom waarin de E1A, E1B en E3 genen zijn gedeleteerd) overgedragen. Vervolgens zijn de in de pAdEasy-1 vector aanwezige bacteriële ori en antibioticum resistentie genen verwijderd door middel van restrictie enzym digestie.

Virulentie

Het GGO kan, in tegenstelling tot wildtype Ad5 dat zich in alle humane epitheliale cellen kan vermenigvuldigen, uitsluitend in geïnfekteerde prostaatkernen repliceren, vanwege het feit dat expressie van het E1A gen onder controle staat van het prostaat-specifieke regulatoire element I/PPT. Door deze modificatie en de deletie van de E3 en E1B genen heeft het GGO een verminderde virulentie en pathogeniteit ten opzichte van Ad5.

Stabiliteit

Genetisch gemodificeerd Ad5 is stabiel voor zover de genoomgrootte niet meer dan 105% van het wildtype genoom bedraagt. Het GGO is stabiel aangezien de genoomgrootte van het GGO 99.2% ten opzichte van het wildtype Ad5 bedraagt.

4.4. Beschrijving van het onderzoek

Het onderzoek zal plaatsvinden in het Erasmus Universitair Medisch Centrum, te Rotterdam. Er zullen maximaal 24 personen worden behandeld in een fase I studie. In de studie zullen patiënten met lokale prostaatkanker ongeveer drie weken voor radicale prostatectomie worden behandeld met Ad[I/PPT-E1A] met een volume van 1 ml verdeeld over 4 toedieningsplaatsen. De studie is een dosis escalatie studie en zal de veiligheid testen van 1×10^{11} , 1×10^{12} , 5×10^{12} en 1×10^{13} virale partikels (vp). Injectie van het virus in de prostaat zal plaatsvinden onder visuele controle door echografie (transrectale ultrasound). Patiënten zullen worden behandeld in de polikliniek van het

Erasmus MC en zullen onmiddellijk na behandeling met het GGO worden ontslagen. Op een aantal gedefinieerde tijdstippen na toediening in de prostaat zal monitoring van de patiënt op het optreden van potentiële bijeffecten plaatsvinden.

Opslag van het GGO, bereiding en toediening van het GGO, observatie van patiënten, monstername, transport, opslag en processing en analyse van monsters (inclusief monsters die het GGO kunnen bevatten) en verwijdering van afval maken allen deel uit van de vergunningaanvraag. In de ziekenhuisapotheek van het Erasmus MC zal opslag en bereiding van het GGO voor toediening in de patiënt plaatsvinden. Toediening van het GGO en monstername zal plaatsvinden in de polikliniek van de afdeling Urologie. Analyse van de samples zal plaatsvinden op de afdelingen Klinische chemie, Virologie, Urologie en Medische Oncologie. Op de afdelingen Urologie en Medische Oncologie zal opslag van samples plaatsvinden.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

4.5. Productie, vervoer, bemonstering en afvalbehandeling

Productie

Productie van het GGO is geen onderdeel van de onderhavige vergunning. Het GGO is geproduceerd volgens het generieke GMP vervaardigingsproces voor adenovirale vectoren door de vector productie faciliteit van het Center for Cell and Gene Therapy (CAGT) in Houston in de Verenigde Staten. De klinische batch is geproduceerd in HEK 293 cellen, een humane embryonale niercellijn die het adenovirale E1 gen constitutief tot expressie brengt. Deze cellijn wordt veelvuldig gebruikt voor de productie van adenovirale vectoren voor klinisch gebruik. De kwaliteitscontrole van de batch is onder GMP condities uitgevoerd met diverse algemeen geaccepteerde tests. De kwaliteitscontrole houdt onder andere in dat de Master Cell Bank en Working Cell Bank van de productie cellijn worden getest op een reeks van virale verontreinigingen, waaronder wildtype adenovirus. Eén van de kwaliteitscontrole testen betreft een *in vitro* assay voor de aanwezigheid van virale contaminanten, waaruit blijkt dat de productieceld negatief is voor wildtype adenovirus. De kwaliteitscontrole van de klinische batch van het GGO omvat een analyse van recombinanten die het E1B gen bevatten (test op zuiverheid). In de klinische batch is 1 E1B bevattende recombinant per miljoen virusdeeltjes van Ad[I/PPT-E1A] aangetoond met een semi-kwantitatieve PCR met een detectie limiet van 100 vp E1B bevattend virus in een achtergrond van 8×10^{10} vp Ad[I/PPT-E1A]. De kwaliteitscontrole testen bevestigen verder de identiteit, zuiverheid en potentie van de klinische batch Ad[I/PPT-E1A]. Daarnaast is prostaatspecificiteit van het klinische product aangetoond in humane primaire cellen en is geen toxiciteit van het klinische product geobserveerd na systemische toediening in muizen. Gebaseerd op de resultaten van de kwaliteitscontrole en de preklinische studies zal vrijgifte van de klinische batch in de voorgenomen studie door het Erasmus MC plaatsvinden.

Bereiding en maatregelen ter voorkoming van verspreiding

Vanwege de sterk geattenueerde eigenschappen van het GGO en de verwaarloosbare hoeveelheden van potentiële recombinanten worden geen schadelijke effecten van transmissie van het virus of recombinanten verwacht en zijn vanuit het milieurisico oogpunt geen veiligheidsmaatregelen noodzakelijk en worden geen in- of exclusiecriteria vanuit het milieurisico oogpunt opgenomen. Om transmissie van het GGO naar het personeel of naar derden te minimaliseren zullen gedurende de preparatie van het GGO, de toediening, de omgang en eventuele hospitalisatie van de patiënten en de behandeling van biologische samples die het GGO kunnen bevatten, standaard ziekenhuishygiënische en veiligheidsmaatregelen worden gehanteerd, zoals training van het personeel, toediening in een standaard behandelingskamer, protocollen voor het schoonmaken, het gebruik van beschermende kledij, routine maatregelen voor de behandeling van biologische specimens en voorzorgsmaatregelen die door de patiënt worden genomen. Het GGO wordt door de fabrikant als een bevroren suspensie geleverd die niet verder verdund hoeft te worden. Handelingen met het GGO in de ziekenhuisapotheek zullen

plaatsvinden in een veiligheidskabinet van klasse 2 gesitueerd binnen een laboratorium waarin ML-II werkvoorschriften worden gehanteerd en dat voldoet aan de ML-II inrichtingsvoorschriften. Hierbij worden werkinstructies van de ziekenhuisapotheek gevolgd. Het GGO wordt op de dag van behandeling ontdooid en overgebracht naar een injectiespuit met naald. De injectiespuit wordt na het vullen geplaatst in een safetybag (vloeistofdichte zak) die wordt geplaatst in een schokbestendige koelbox die naar de polikliniek wordt getransporteerd door het klinisch personeel van de afdeling Urologie.

Injectie van het virus zal plaatsvinden in een kamer in de polikliniek die zo is geprepareerd dat deze achteraf goed kan worden gereinigd. Oppervlakken zijn glad en vrij van objecten; een minimaal aantal objecten is aanwezig in de kamer. In de kamer zijn containers voor verwijdering van ggo-afval en een afsluitbare fles voor opvang van urine aanwezig. Tijdens de handelingen met het GGO is de kamer gelabeld met een biorisicoteken. De patiënt zal worden gevraagd om onderkleding te verwijderen in een aangrenzende kamer en zal gekleed gaan in een disposable jas en slippers. De uroloog en verplegend personeel dragen handschoenen, een mondmasker en een wegwerpjas over hun kledij. Na toediening van het GGO zal de kamer worden schoongemaakt. Vanaf het moment van binnenkomst van de patiënt totdat de kamer is schoongemaakt zal de kamer niet voor andere doeleinden worden gebruikt. Patiënten zullen onmiddellijk na behandeling met het GGO worden ontslagen. Om eventuele directe transmissie te voorkomen zal de patiënten worden gevraagd om in de periode tussen toediening en chirurgische verwijdering van de prostaat (ongeveer drie weken na injectie) gedurende seksueel contact een condoom te gebruiken. Het condoom moet in een plastic zak bij het gewone huisafval worden gedeponereerd en na het weggooiën van het condoom moeten de handen goed met zeep worden gewassen.

Voor de operatieve verwijdering van de prostaat en drainerende lymfeklieren wordt de Erasmus MC "Veilig werken in de operatiekamer" Infectiepreventie richtlijn ZH006WIP gevolgd. Deze richtlijn is opgesteld om ziekenhuispersoneel te beschermen tegen infectie met pathogene micro-organismen waarmee de patiënt potentieel besmet kan zijn. Het volgen van deze richtlijn wordt als voldoende beschouwd om het risico van besmetting van ziekenhuispersoneel te minimaliseren.

Transport en afval

Transport van het GGO en van samples afkomstig van de patiënten en verwijdering van afval zal plaatsvinden volgens appendix 8 en 9 van de regeling GGO.

Monstername

Monstername maakt deel uit van de onderhavige aanvraag en beschikking. Bloed, urine, prostaatweefsel en lymfeklieren zullen van de patiënten worden verzameld voor klinische en immunologische monitoring. Bloed en urine zal worden afgenomen 1, 2, 4, 7, 14 en 21 dagen na virus injectie. Tevens zal bloed worden afgenomen 6, 9 en 15 weken en 7 en 13 maanden na virus injectie. De aanwezigheid van het virus in bloed en urine zal in de dag 1-21 monsters worden gemeten met een kwalitatieve PCR om inzicht in de biodistributie en shedding (verspreiding) van het virus te verkrijgen.

Ongeveer 21 dagen na toediening van het GGO zullen de patiënten radicale prostatectomie ondergaan. De prostaat en drainerende lymfeklieren zullen na radicale prostatectomie histopathologisch worden onderzocht. Tevens wordt de distributie van het GGO in de prostaat bestudeerd en vindt immunologische monitoring plaats.

Weefselmonsters zullen voor verdere analyse naar de betrokken afdelingen worden getransporteerd. Het GGO kan in de prostaat aanwezig zijn. Minimale hoeveelheden van het GGO kunnen in de drie weken tussen injectie en radicale prostatectomie in het bloed en urine aanwezig zijn. Shedding in bloed en urine kan tot 3 weken na injectie optreden omdat het orgaan als virus reservoir na drie weken wordt verwijderd.

In geval een patiënt besluit om geen radicale prostatectomie te ondergaan zal het virus op basis van de beschikbare data uit de literatuur met soortgelijke vectoren binnen een maand uit de prostaat zijn geëlimineerd.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

4.6. Interactie met het milieu

Op grond van de gegevens over verspreiding na toediening in de prostaat van het betreffende GGO in proefdieren en eerdere klinische studies met vergelijkbare replicatie-selectieve Ad5 vectoren kan niet op voorhand worden uitgesloten dat geen verspreiding van het GGO naar en infectie van derden zal optreden. Verder dient te worden nagegaan in hoeverre het GGO zich na toediening in de prostaat zou kunnen verspreiden naar plaatsen in het lichaam waar zich op dat moment wildtype adenovirussen bevinden, bijvoorbeeld de luchtwegen. Hier zou recombinatie tussen het GGO en het wildtype adenovirus kunnen optreden. De risico's van het toegepaste GGO en de eventuele recombinanten die kunnen worden gevormd, worden beschouwd in de milieurisicoanalyse in het volgende hoofdstuk.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

5. MILIEURISICOANALYSE

De milieurisicoanalyse is een technisch-wetenschappelijk werkproces waarbij de mogelijke risico's voor de menselijke gezondheid en het milieu die verbonden zijn aan de werkzaamheden inzichtelijk worden gemaakt. Deze technisch-wetenschappelijke milieurisicoanalyse is gedetailleerd beschreven in het werkdocument "Milieurisicoanalyse behorend bij aanvraag IM 12-002". 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 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

In het GGO Ad[I/PPT-E1A], dat gebaseerd is op Ad5 zijn de E1A, E1B en E3 genen van Ad5 gedeleteerd. De sequentie die in het GGO Ad[I/PPT-E1A] is ingebracht codeert voor het E1A eiwit van adenovirus serotype 2. Replicatie van Ad[I/PPT-E1A] en het resulterende cytotoxische effect is beperkt tot prostaat cellen, omdat expressie van het voor replicatie essentiële E1A eiwit gecontroleerd wordt door een prostaat-specifiek regulatorisch element (I/PPT). Hierdoor kan het GGO uitsluitend prostaatcellen doden. Op basis van resultaten uit preklinische studies met het GGO en eerdere klinische studies met Ad5 afgeleide vectoren, is de verwachting dat toepassing van het GGO zal leiden tot een tijdelijke aanwezigheid van de vectordeeltjes in de patiënt. In de milieurisicoanalyse wordt beoordeeld of en hoe derden blootgesteld kunnen worden aan de vector en of vervolgens infectie van derden op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als derden geïnfecteerd worden met de vector of eventuele recombinanten van de toegepaste vector.

5.2. Het GGO (Ad[I/PPT-E1A])

Persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen

Expressie van het E1A gen is essentieel voor replicatie van adenovirussen. Het geïnserteerde E1A gen van Ad2 is functioneel volledig vergelijkbaar met het gedeleteerde E1A gen van Ad5. Expressie van E1A staat onder controle van het prostaat-specifieke regulatorische element I/PTT. Hierdoor kan het GGO, in tegenstelling

tot wildtype Ad5 dat zich in alle humane epitheliale cellen kan vermenigvuldigen, uitsluitend in geïnfecteerde prostaatcellen repliceren. Daarbij komt dat het GGO vanwege de deletie van de E3 genen gemakkelijker door het immuunsysteem herkend kan worden en vanwege de deletie van het E1B gen minder efficiënt in de prostaat kan repliceren. De modificaties leiden dus tot een virus met een verminderde replicatie, virulentie en persistentie ten opzichte van wildtype Ad5. Vermenigvuldiging van het GGO in normale cellen kan eventueel wel plaatsvinden als behalve de vector ook wildtype adenovirussen in dezelfde cel aanwezig zijn.

Infectie van humane cellen door Ad5 treedt op door binding van het fiber eiwit van Ad5 aan de CAR receptor die op epitheliale cellen tot expressie komt. Dit fiber eiwit is in het GGO normaal aanwezig. De modificaties in het GGO (Ad[I/PPT-E1A]) hebben geen invloed op het gastheerbereik, de gastheerspecificiteit of het cel- en weefseltropisme ten opzichte van wildtype Ad5.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

Complementatie

De aanwezigheid van wildtype Ad5 in door Ad[I/PPT-E1A] geïnfecteerde cellen kan de replicatie van Ad[I/PPT-E1A] faciliteren en de persistentie verlengen, doordat de ontbrekende genen in het GGO worden gecompenseerd door de transcripten van het wildtype genoom. Het E1 gen van wildtype Ad5 wordt in dit geval gebruikt voor de replicatie van Ad[I/PPT-E1A] en Ad[I/PPT-E1A] zal zich hierdoor als wildtype Ad5 gedragen. Een dergelijk effect is echter tijdelijk en zelflimiterend en heeft een verwaarloosbaar effect op de verspreiding van het GGO. Complementatie kan leiden tot de vorming van nieuwe deeltjes die identiek zijn aan de uitgangsvector en die in staat zijn om andere cellen te infecteren. Dit effect is echter uitdovend als de vector zich niet meer in aanwezigheid van wildtype Ad5 bevindt.

Gezien de plaats van toediening (prostaat) en de weefselpreferentie van wildtype Ad5 (luchtwegen) is het bovendien uiterst onwaarschijnlijk dat een dergelijke simultane infectie zal optreden. Het risico dat complementatie van invloed is op de verspreiding of de persistentie van het GGO is verwaarloosbaar klein.

Genoverdracht

Recombinatie van het GGO met adenovirale sequenties waardoor nieuwe recombinanten ontstaan kan op verschillende manieren optreden:

1. Door recombinatie van Ad[I/PPT-E1A] in de productieceld kunnen de volgende recombinanten ontstaan:

- een recombinant waarin het Ad2 E1A insert is vervangen door het Ad5 E1A insert uit het genoom van de productieceld. Deze recombinatie heeft geen invloed op de functionaliteit of pathogeniteit van Ad[I/PPT-E1A], aangezien er geen functionele verschillen zijn tussen het E1A transcript van Ad2 en Ad5.
- introductie van het E1B gen uit het genoom van de productieceld in Ad[I/PPT-E1A]. Deze variant kan efficiënter repliceren in de prostaat dan Ad[I/PPT-E1A] in cellen met een intacte p53 signaalroute. In het klinische product wordt 1 deeltje E1B bevattende partikels per miljoen deeltjes Ad[I/PPT-E1A] gedetecteerd.
- een recombinant waarin de I/PPT regulatoire regio is vervangen door de E1A promotor uit het genoom van de productieceld, resulterend in een variant gelijkend op E1B gedeleteerde vectoren, zoals Onyx-015, waarvan de veiligheid reeds eerder in klinische studies is aangetoond. Deze variant kan non-selectief repliceren hetgeen mogelijk leidt tot efficiëntere generatie van Ad[I/PPT-E1A] gerelateerde partikels in de prostaat.
- een recombinant waarin naast introductie van het E1B gen, de I/PPT regulatoire regio is vervangen door de wildtype E1A promotor uit het genoom van de productieceld, overeenkomend met een wildtype-achtig Ad5 met deletie van het E3 gen. Deze variant is pathogener ten opzichte van Ad[I/PPT-E1A] aangezien deze non-selectief en efficiënter kan repliceren, maar is minder pathogeen dan wildtype Ad5.

2. Door recombinatie van Ad[I/PPT-E1A] met wildtype Ad5 in de patiënt kunnen de volgende recombinanten ontstaan:

- een recombinant waarin het Ad2 E1A insert is vervangen door het Ad5 E1A insert. Deze recombinatie heeft geen invloed op de functionaliteit of pathogeniteit van Ad[I/PPT-E1A], aangezien er geen functionele verschillen zijn tussen het E1A transcript van Ad2 en Ad5.
- introductie van het E1B gen van Ad5 in Ad[I/PPT-E1A]. Deze variant kan efficiënter repliceren in de prostaat dan Ad[I/PPT-E1A] in cellen met een intacte p53 signaalroute. In het klinische product wordt 1 deeltje E1B bevattende partikels per miljoen deeltjes Ad[I/PPT-E1A] gedetecteerd.
- Introductie van het E3 gen in Ad[I/PPT-E1A], dit zal resulteren in een recombinant die resistenter is voor het immuunsysteem van de patiënt en daardoor mogelijk langer kan persisteren.
- een recombinant waarin de I/PPT regulatoire regio is vervangen door de wildtype E1A promotor van het Ad5 genoom, resulterend in een variant gelijkend op E1B gedeleteerde vectoren, zoals Onyx-015, waarvan de veiligheid reeds eerder in klinische studies is aangetoond. Deze variant kan non-selectief repliceren hetgeen mogelijk leidt tot efficiëntere generatie van Ad[I/PPT-E1A] gerelateerde partikels in de prostaat.
- een combinatie van de bovenstaande recombinaties, leidend tot de introductie van het E1B gen en/of de introductie van het E3 gen en/of de vervanging van de I/PPT regulatoire regio door de wildtype E1A promotor. Dit zal resulteren in non-selectieve en efficiëntere replicatie, leidend tot vorming van meer Ad[I/PPT-E1A] gerelateerde partikels in de prostaat.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

De bovenstaande recombinatie gebeurtenissen kunnen de selectiviteit van replicatie, efficiëntie van replicatie en persistentie beïnvloeden maar zijn niet van invloed op de verspreidingsroute, tropisme of gastheerbereik van het virus.

Kiembaantransmissie

Adenovirussen zijn, evenals plasmide DNA, in staat om te integreren in het genoom van gastheercellen. Kiembaantransmissie bij toepassing van adenovirale vectoren is echter nog nooit eerder beschreven, ook niet onder experimentele condities waarin getracht werd kiembaantransmissie te bewerkstelligen. De modificaties hebben geen invloed op de integratie eigenschappen ten opzichte van wildtype adenovirus. Verticale transmissie van het GGO of recombinante vectoren kan niet plaatsvinden.

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

Het GGO is geattenuerd ten opzichte van wildtype Ad5 door de gecontroleerde expressie van E1A en de deletie van de E3 en E1B genen. Replicatie van Ad[I/PPT-E1A] en het resulterende cytotoxische effect is (in tegenstelling tot wildtype Ad5) beperkt tot prostaat cellen, omdat expressie van E1A, het adenovirale eiwit benodigd voor replicatie, wordt gecontroleerd door het prostaat-specifiek regulator element. Hierdoor kan het GGO uitsluitend prostaatcellen vernietigen. Gebaseerd op preklinische resultaten met betrekking tot de specificiteit van Ad[I/PPT-E1A], is het zeer onwaarschijnlijk dat infectie van humane niet-prostaat cellen met Ad[I/PPT-E1A] zal resulteren in cytotoxiciteit door geen of geringe replicatie. In het worst-case scenario, waarbij de mate van replicatie voldoende zou zijn voor het induceren van een bepaalde mate van cytotoxiciteit, zullen de pathogene effecten vergelijkbaar zijn met die van wildtype Ad5.

Zoals hierboven besproken kunnen door recombinatie een aantal varianten ontstaan. Deze recombinatie gebeurtenissen kunnen de selectiviteit van replicatie, efficiëntie van replicatie en persistentie beïnvloeden, maar zijn niet van invloed op de verspreidingsroute, tropisme of gastheerbereik van het virus. Het pathogene effect van Ad[I/PPT-E1A] en varianten is, in geïnfecteerde cellen waarin deze in staat zijn te

repliceren identiek aan het wildtype Ad5 virus. Door replicatie en expressie van adenovirale eiwitten zal de geïnfecteerde cel uiteindelijk worden gedood, waarna aangrenzende cellen kunnen worden geïnfecteerd. De toxiciteit van de recombinanten voor humane cellen is in het ergste geval identiek aan de toxiciteit van wildtype Ad5, dat van nature een mild pathogeen is. Adenovirus is een endemisch virus, er worden geen allergische reacties verwacht. Samengevat geldt dat indien recombinitie zou optreden recombinanten worden gegenereerd die pathogener kunnen zijn dan het GGO (Ad[I/PPT-E1A]) maar die in het ergste geval karakteristieken zullen hebben die gelijk zijn aan die van wildtype Ad5. Deze varianten kunnen in geval van transmissie naar derden verkoudheid veroorzaken.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

5.4. Waarschijnlijkheid van het optreden van het schadelijk effect

Luchtweginfecties van Ad5 worden gewoonlijk overgedragen door aërosolen die vrijkomen door hoesten en niezen van geïnfecteerde personen. Ad5 kan zich verder verspreiden door direct contact, via de oro-fecale route en soms via water. Studies in vrijwilligers hebben aangetoond dat door casueel contact geen horizontale overdracht van Ad5 optreedt tussen geïnfecteerde personen en derden.

Het GGO wordt transrectaal in de prostaat geïnjecteerd. In theorie kan het virus vanuit de prostaat naar de circulatie of naar andere delen van het urogenitale systeem lekken. Hierdoor kan het virus in bloed en/of urine terecht komen. Verder kan het virus zich naar het sperma verspreiden aangezien gedurende de ejaculatie prostaatvloeistof aan het sperma wordt toegevoegd.

Biodistributie van het GGO naar andere excreterende organen die geen onderdeel zijn van het urogenitaal systeem, zoals de speekselklieren en het colon, kan uitsluitend via de circulatie plaatsvinden. Hiervoor is lekkage van het virus vanuit de prostaat in het bloed gevolgd door penetratie van het virus van het bloed naar de excreterende delen van deze organen noodzakelijk. Verspreiding van het GGO via de circulatie zal beperkt zijn vanwege de lokale toediening in de prostaat. Indien virus in de circulatie lekt zal het snel worden geneutraliseerd door het immuunsysteem en door binding aan erythrocyten. Het is daarom zeer onwaarschijnlijk dat het virus zich zal verspreiden via het bloed naar speeksel, faeces of andere excreta. Er is een gering risico dat lekkage in het rectum zal optreden, resulterend in uitscheiding van het GGO via de ontlasting. Dit risico is dosisafhankelijk en hangt met name af van lekkage vanuit de naald gedurende injectie. Uitscheiding via deze route zal uitsluitend gedurende de eerste ontlasting na toediening optreden.

Samengevat kan verspreiding van het GGO vanuit de patiënt via de urine of het zaad optreden en zijn andere verspreidingsroutes minder waarschijnlijk. Indien transmissie van het GGO naar derden zou plaatsvinden, door bijvoorbeeld direct inhalatie van aërosolen welke kunnen vrijkomen bij een incident tijdens toediening, of door virus aanwezig in sperma tijdens geslachtsgemeenschap en/of via contact met excreta die virus bevatten, zal het GGO in een recipiënt dezelfde cellen infecteren als wildtype adenovirus. Infectie van de prostaat van een derde door blootstelling aan het GGO kan echter niet plaatsvinden. In geval van blootstelling van een derde aan het GGO kan het GGO de prostaat niet bereiken aangezien het virus niet door fysiologische barrières zoals de vasculaire en rectale wand en het omringende weefsel kan breken. Bovendien wordt adenovirus in de circulatie snel afgebroken. Vanwege het feit dat het GGO zich uitsluitend in de prostaat kan vermenigvuldigen kan geen verdere horizontale verspreiding van het GGO plaatsvinden. Daarbij komt dat adenovirale infecties gewoonlijk zelflimiterend zijn en dat de dosis waaraan de niet-doel populatie systemisch zal worden blootgesteld vele malen lager zal zijn dan de dosis van het GGO die toegediend wordt aan de patiënt. De waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten van het GGO in de niet-doel populatie zullen optreden is derhalve verwaarloosbaar klein.

Het is zeer onwaarschijnlijk dat de recombinitie van Ad[I/PPT-E1A] met wildtype Ad5 in de patiënt zal optreden. De prostaat is geen preferentieel orgaan voor wildtype Ad5

waardoor de hoeveelheden Ad5 in de prostaat in geval van een luchtweginfectie met wildtype Ad5 in de patiënt zeer laag zullen zijn. Bovendien worden Ad[I/PPT-E1A] en wildtype Ad5 in de circulatie snel geneutraliseerd door het immuunsysteem van de patiënt en door binding aan erythrocyten, hetgeen de kans op recombinatie verlaagd. Hierdoor is ook de kans dat Ad[I/PPT-E1A] in de luchtwegen terechtkomt zeer klein. Indien recombinatie met wildtype Ad5 zou optreden worden recombinanten gegenereerd die pathogener kunnen zijn dan Ad[I/PPT-E1A] maar die in het ergste geval karakteristieken zullen hebben die gelijk zijn aan die van wildtype Ad5. Deze varianten kunnen in geval van transmissie naar derden verkoudheid veroorzaken. Aangezien de patiënt in dit geval al een wildtype Ad5 infectie heeft en grote hoeveelheden wildtype Ad5 in het milieu zal uitscheiden, zal de bijdrage aan schadelijke effecten in het milieu door blootstelling aan Ad[I/PPT-E1A] recombinanten verwaarloosbaar zijn.

In het klinische product wordt 1 E1B bevattend virusdeeltje per miljoen deeltjes Ad[I/PPT-E1A] gedetecteerd. Dit betekent dat gedurende infectie 1 partikel van de E1B bevattende recombinanten moet competieren met 1×10^6 partikels van het GGO voor infectie van een doelwitcel. Dit kan ook E1B recombinanten betreffen waarin de wildtype E1A promoter aanwezig is vanwege recombinatie van het GGO met het gehele E1 gen aanwezig in het genoom van de packaging cellijn HEK 293. Door deze enorme overvloed van Ad[I/PPT-E1A] partikels is het zeer onwaarschijnlijk dat in geval van blootstelling van een derde efficiënte infectie door E1B bevattende virusdeeltjes (al dan niet met wildtype E1A promoter) resulterend in vermeerdering van deze partikels zal optreden. In overeenstemming hiermee is geen replicatie en cytotoxiciteit van het klinische product in humane primaire (niet-prostaat) cellen en muizen waargenomen. De hoeveelheden van E1B bevattende recombinanten (die al dan niet de wildtype E1A promoter bevatten) waaraan derden kunnen worden blootgesteld zullen daarom irrelevant zijn.

5.5. Schatting van het risico van het GGO

Zowel voor de gebruikte vector (Ad5 met deletie van E1A, E1B en E3 genen) als voor de hierin gekloneerde I/PTT-E1A sequentie is geconcludeerd dat er geen sprake is van een risico voor mens en milieu. Verspreiding van het GGO in het milieu via bijvoorbeeld excreta (sperma, urine) kan niet worden uitgesloten. 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 echter ook dan verwaarloosbaar klein zijn.

5.6. Maatregelen voor risicobeheer

Vanwege de sterk geattenueerde eigenschappen van het GGO en de verwaarloosbare hoeveelheden van potentiële recombinanten worden geen schadelijke effecten van transmissie van het virus of recombinanten verwacht en zijn vanuit het milieurisico oogpunt geen veiligheidsmaatregelen noodzakelijk en worden geen in- of exclusiecriteria vanuit het milieurisico oogpunt opgenomen. Om transmissie van het GGO naar het personeel of naar derden te minimaliseren zullen gedurende de preparatie van het GGO, de toediening, de omgang en eventuele hospitalisatie van de patiënten en de behandeling van biologische samples die het GGO kunnen bevatten, standaard ziekenhuishygiënische en veiligheidsmaatregelen worden gehanteerd.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.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.

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

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

De modificaties in het GGO (Ad[I/PPT-E1A]) hebben geen invloed op het gastheerbereik, de gastheerspecificiteit of het cel- en weefseltropisme ten opzichte van wildtype Ad5. Het GGO is verzwakt ten opzichte van wildtype Ad5 door de gecontroleerde expressie van E1A en de deletie van de E3 en E1B genen. Replicatie van Ad[I/PPT-E1A] en het resulterende cytotoxische effect is (in tegenstelling tot wildtype Ad5) beperkt tot prostaatcellen, omdat expressie van E1A, het adenovirale eiwit benodigd voor replicatie, wordt gecontroleerd door het prostaat-specifieke regulatorische element. Hierdoor kan het GGO uitsluitend prostaatcellen doden. De modificaties leiden dus tot een virus met een verminderde replicatie en fitheid en een verminderde persistentie ten opzichte van wildtype Ad5. Eventuele infectie van derden met het GGO zal niet resulteren in persistentie van het GGO vanwege de prostaatspecifieke replicatie-eigenschappen van het GGO en het feit dat het uiterst onwaarschijnlijk is dat de prostaat bij een adenovirale infectie via de reguliere infectieroutes geïnfecteerd raakt, vanwege fysieke barrières. De kans dat het GGO in natuurlijke habitats persistent en invasief wordt onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie is verwaarloosbaar klein.

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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

Het GGO kan, in tegenstelling tot wildtype Ad5 dat zich in alle humane epitheliale cellen kan vermenigvuldigen, uitsluitend in geïnfecteerde prostaatcellen repliceren, omdat expressie van het E1A gen onder controle staat van het prostaat-specifieke regulatorische element I/PTT. Daarbij komt dat het GGO door de deletie van de E3 genen gemakkelijker door het immuunsysteem herkend kan worden en dat deletie van het E1B gen leidt tot een verminderde replicatie efficiëntie van het virus. Hierdoor heeft het GGO een verminderde virulentie en pathogeniteit ten opzichte van Ad5.

Complementatie van het GGO kan theoretisch optreden indien normale cellen (met name luchtwegcellen) gecoïnfecteerd raken met het GGO en een wildtype adenovirus. Een dergelijk effect is echter tijdelijk en zelflimiterend en kan er hooguit toe leiden dat het GGO zich tijdelijk als een wildtype adenovirus zal gedragen. Gezien de plaats van toediening (prostaat) en de weefselpreferentie van wildtype Ad5 (luchtwegen) is het bovendien uiterst onwaarschijnlijk dat een dergelijke simultane infectie zal optreden. Het risico dat selectieve voordelen of nadelen op het GGO zijn 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

In het klinische product wordt 1 E1B bevattend virusdeeltje per miljoen deeltjes Ad[I/PPT-E1A] gedetecteerd. Deze E1B recombinanten of eventuele andere recombinanten die zouden kunnen ontstaan door recombinatie met wildtype Ad5 in de patiënt of in de productieceld kunnen pathogener zijn dan Ad[I/PPT-E1A] maar zullen in het ergste geval karakteristieken hebben die gelijk zijn aan die van wildtype Ad5. Deze varianten kunnen in geval van transmissie naar derden verkoudheid veroorzaken. Daarbij komt dat het uiterst onwaarschijnlijk is dat, gezien de toediening in de prostaat, recombinatie van Ad[I/PPT-E1A] met wildtype

Ad5 in de patiënt zal optreden en dat de hoeveelheden van E1B bevattende recombinanten waaraan derden kunnen worden blootgesteld, gezien de overmaat van het GGO, irrelevant zullen zijn. De kans dat door overdracht op andere soorten onder de omstandigheden van de voorgestelde introductie van het GGO selectieve voordelen of nadelen op deze soorten kunnen worden overgedragen, is verwaarloosbaar klein.

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

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

Ad5 komt van nature alleen voor bij de mens en is niet in staat om in de natuur op een efficiënte wijze andere organismen dan de mens te infecteren. De modificaties in het GGO (Ad[1/PPT-E1A]) hebben geen invloed op het gastheerbereik, de gastheerspecificiteit of het cel- en weefseltropisme ten opzichte van wildtype Ad5. Het GGO is tijdelijk aanwezig in de proefpersoon als gevolg van de prostaat-specifieke replicatie van het GGO en de verwijdering van de prostaat ongeveer drie weken na injectie met het GGO. De dosis waaraan een niet-doelwit organisme wordt blootgesteld zal in vergelijking met de dosis die aan de proefpersoon toegediend wordt laag zijn. Eventuele infectie van derden met het GGO zal niet resulteren in schadelijke effecten vanwege de prostaat-specifieke replicatie eigenschappen van het GGO en het feit dat de prostaat bij een adenovirale infectie via de reguliere infectieroutes vanwege fysieke barrières niet geïnfecteerd zal raken. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het GGO en dat daardoor een schadelijk effect optreedt is verwaarloosbaar klein.

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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

Het GGO is geattenuëerd ten opzichte van wildtype Ad5 door de gecontroleerde expressie van E1A en de deletie van de E3 en E1B genen. Replicatie van Ad[1/PPT-E1A] en het resulterende cytotoxische effect is (in tegenstelling tot wildtype Ad5 dat in alle geïnfecteerde humane epitheliale cellen kan repliceren) beperkt tot prostaat cellen, omdat expressie van E1A, het adenovirale eiwit benodigd voor replicatie, wordt gecontroleerd door het prostaat-specifiek regulator element. Hierdoor kan het GGO uitsluitend prostaatkernen vernietigen. Eventuele infectie van derden met het GGO zal niet resulteren in schadelijke effecten vanwege de prostaat-specifieke replicatie eigenschappen van het GGO en het feit dat de prostaat bij een adenovirale infectie via de reguliere infectieroutes vanwege fysieke barrières niet geïnfecteerd zal raken. De kans dat derden geïnfecteerd raken met het GGO en dat daardoor een schadelijk effect optreedt is verwaarloosbaar klein.

6. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk

De waarschijnlijkheid van verandering in de staande medische praktijk bij toepassing van het GGO is verwaarloosbaar klein. Doel van de behandeling is de behandeling van prostaat tumoren. Hierdoor zal het arsenaal aan mogelijke behandelingen voor kankerpatiënten toenemen. Hier zijn geen nadelige gevolgen voor mens of milieu verbonden.

7. ADVIES

De COGEM heeft eerder geadviseerd over een klinische studie betreffende de toepassing van een replicatiedeficiënte adenovirale vector voor de behandeling van prostaattumoren (CGM/060512-01). Het betrof hier een vector met een transgeen insert, humaan interleukine 12, een krachtige stimulator van het immuunsysteem, waarvan expressie in geïnfecteerde personen mogelijk een nadelig effect kan hebben. De COGEM was destijds van mening dat risicomanagement maatregelen (anti-conceptie, desinfectie van urine, uitsluiting van patiënten met een acute adenovirale infectie) noodzakelijk waren om verspreiding van het recombinante adenovirus en recombinatie met wildtype adenovirussen te voorkomen. De COGEM achtte de risico's voor mens en milieu, met inachtneming van de voorgestelde maatregelen, verwaarloosbaar klein.

Op 10 juli 2012 heeft de COGEM geadviseerd over de onderhavige klinische studie (CGM/120710-01). De COGEM geeft in haar advies aan dat het genetische gemodificeerde virus enkele genen mist die nodig zijn voor efficiënte replicatie en voor remming van het afweersysteem. Aangezien het virus verder geen eiwitcoderend transgen bevat is de COGEM van mening dat de adenovirale vector verzwakt is ten opzichte van het oudervirus. In theorie acht de COGEM het mogelijk dat in de onderhavige studie het virus zich kan verspreiden en derden kan infecteren. De risico's van verspreiding zijn echter verwaarloosbaar klein aangezien het virus niet kan repliceren buiten de prostaat en snel door het afweersysteem onschadelijk zal worden gemaakt. De COGEM acht de kans op het ontstaan van recombinant virus tijdens de productiefase of na toediening in de patiënt aanwezig. Dit kan in het uiterste geval leiden tot een virus met een normaal wildtype replicatieprofiel en de daarbij passende pathogeniteit. Aangezien dergelijke virussen altijd in de samenleving circuleren leidt dit niet tot extra risico's. Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan de onderhavige studie met een conditioneel-replicerend humaan adenovirus verwaarloosbaar klein zijn. Het COGEM advies is bij het opstellen van de beschikking gevolgd.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

8. ZIENSWIJZEN NAAR AANLEIDING VAN DE KENNISGEVING VAN DE AANVRAAG EN DE ONTWERPBESCHIKKING

Zienswijzen ingebracht door 26 personen (zie bijlage 4, personen 1-26):

1. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar een schrijven van het Duitse Umwelt Institut München dat van mening is dat levende GGO's niet meer controleerbaar en terughaalbaar zijn, wanneer deze eenmaal in het milieu zijn losgelaten zijn.

Reactie:

Uit de milieurisicoanalyse blijkt dat de modificaties in het GGO (Ad[I/PPT-E1A]) leiden tot een virus met een verminderde replicatie en fitheid en een verminderde persistentie ten opzichte van wildtype Ad5. In het geval van eventuele infectie van derden zal het GGO niet kunnen persisteren vanwege de prostaatspecifieke replicatie-eigenschappen van het GGO en het feit dat het uiterst onwaarschijnlijk is dat de prostaat bij een adenovirale infectie via de reguliere infectieroutes geïnfecteerd raakt, vanwege fysieke barrières. De kans dat het GGO in natuurlijke habitats aanwezig blijft is derhalve verwaarloosbaar klein. De COGEM concludeert in haar advies (CGM/120710-01) dat de risico's van verspreiding van het GGO verwaarloosbaar klein zijn aangezien het virus niet kan repliceren buiten de prostaat en snel door het afweersysteem onschadelijk zal worden gemaakt. Een eventuele infectie van derden zal hierdoor snel uitdoven. De COGEM acht de kans op het ontstaan van recombinant virus tijdens de productiefase of na toediening in de patiënt aanwezig. Dit kan in het meest ernstige geval leiden tot een virus met een normaal wildtype replicatieprofiel en de daarbij

passende pathogeniteit. Aangezien dergelijke virussen altijd in de samenleving circuleren leidt dit niet tot extra risico's. Op basis van bovenstaande gegevens is de COGEM van mening dat de milieurisico's verbonden aan de onderhavige studie met een conditioneel-replicerend humaan adenovirus verwaarloosbaar klein zijn. Op basis van deze informatie is het Ministerie tot de conclusie gekomen dat de risico's voor mens en milieu van de aangevraagde werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

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

2. De indieners van de zienswijzen missen bij de aanvraag een MSDS Material Safety Data Sheet (veiligheidsinformatieblad). Als dat niet toegevoegd is, is de aanvraag volgens de indieners van de zienswijzen incompleet en moet vergunningverlening daarop worden afgewezen.

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

Reactie: Een veiligheidsinformatieblad is door de aanvrager niet meegeleverd, omdat het leveren van een veiligheidsblad geen vereiste is bij een aanvraag voor een vergunning voor introductie in het milieu op grond van het Besluit ggo. Bij het op de markt brengen van bijvoorbeeld een chemische stof of een medicijn kan wel om een dergelijk formulier gevraagd worden. In dit geval betreft het een fase I studie van een genterapeuticum, en niet van een marktregistratie.

3. De indieners van de zienswijzen zijn van mening dat gentech virusvaccins een risico voor mensen en een milieurisico vormen. Zij verwijzen daarbij en naar het artikel "Genetically engineered virus-vectored vaccines-environmental risk assessment and management challenges". Hierin wordt onder andere aangegeven dat er omstandigheden kunnen zijn waarbij genetisch gemodificeerde virussen direct over soortbarrières kunnen springen of na recombinatie met van nature voorkomende virussen.

Reactie:

Ad5 komt van nature alleen voor bij de mens en is niet in staat om in de natuur op een efficiënte wijze andere organismen dan de mens te infecteren. De modificaties in het GGO (Ad[I/PPT-E1A]) hebben geen invloed op het gastheerbereik, de gastheerspecificiteit of het cel- en weefsel tropisme ten opzichte van wildtype Ad5. Het GGO is tijdelijk aanwezig in de proefpersoon als gevolg van de prostaat-specifieke replicatie van het GGO en de verwijdering van de prostaat ongeveer drie weken na injectie met het GGO. De dosis waaraan een niet-doelwit organisme wordt blootgesteld zal in vergelijking met de dosis die aan de proefpersoon toegediend wordt laag zijn. Eventuele infectie van derden met het GGO zal niet resulteren in schadelijke effecten vanwege de prostaat-specifieke replicatie eigenschappen van het GGO en het feit dat de prostaat bij een adenovirale infectie via de reguliere infectieroutes vanwege fysieke barrières niet geïnfecteerd zal raken. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het GGO en dat daardoor een schadelijk effect optreedt is verwaarloosbaar klein. In het klinische product wordt 1 recombinant virusdeeltje per miljoen deeltjes Ad[I/PPT-E1A]) gedetecteerd. Deze zogenaamde E1B recombinanten of eventuele andere recombinanten die zouden kunnen ontstaan door recombinatie met wildtype Ad5 kunnen pathogener zijn dan Ad[I/PPT-E1A]. In het ergste geval zullen deze recombinanten echter karakteristieken hebben die gelijk zijn aan die van wildtype Ad5. Deze varianten kunnen in geval van transmissie naar derden verkoudheid veroorzaken. Uit de milieurisicoanalyse blijkt derhalve dat de toepassing van het GGO niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. Ook de COGEM concludeert in haar advies (CGM/120710-01) dat de risico's van eventuele verspreiding en recombinatie verwaarloosbaar klein zijn (zie ook de reactie op zienswijze 1). Op basis van deze informatie is het Ministerie tot de conclusie gekomen dat de risico's voor mens en milieu van de aangevraagde werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

4. De indieners van de zienswijzen halen publicaties aan (“Wetenschap van vaccinatieschade” en “De verborgen gevaren van vaccinaties”) waarin wordt gewezen op de gevaren van met gentechnologie vervaardigde vaccins. In deze stukken wordt gesteld dat gemodificeerde levende virusvaccins (onder andere zogenaamde VLP vaccins, vaccins die zijn toegepast in honden en katten en het Salk polio vaccin) een negatieve invloed hebben op het immuunsysteem en allerlei andere ziektes zoals kanker in de hand werken.

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

Reactie: Evenals in de reactie op zienswijze 1 en 3, kan gesteld worden dat voor de injectie van proefpersonen met het GGO er geen schadelijke effecten voor mens en milieu geïdentificeerd zijn. De zienswijze over gemodificeerde levende virusvaccins en de negatieve invloed op het immuunsysteem en het ontstaan van kanker is niet gericht op de milieurisicoanalyse van het GGO dat in de onderhavige studie wordt toegepast, maar heeft in het algemeen betrekking op de werkzaamheid van vaccins en de veronderstelde negatieve effecten op proefpersonen die in de studie gevaccineerd worden (doelpopulatie). Deze aspecten worden niet meegewogen onder het Besluit GGO. De indieners van deze zienswijze geven niet aan welke risico's voor mens (dat betekent in dit kader de niet-doel populatie) en milieu zij zien. 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.

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

Ten overvloede wordt vermeld dat het onderzoeksvoorstel door de Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek (CCMO) wordt getoetst volgens de criteria van de Wet medisch-wetenschappelijk onderzoek met mensen (WMO). De CCMO waarborgt de bescherming van proefpersonen betrokken bij medisch-wetenschappelijk onderzoek. De CCMO beoordeelt mogelijke risico's, eventuele voordelen voor de patiënten en andere medisch ethische aspecten verbonden aan klinische studies.

5. De indieners van de zienswijzen halen een uitspraak van 6 september 2011 van het Europese Hof van Justitie aan waarin geschreven staat dat sporen van gentech materiaal, hoe klein ook niet zonder meer kunnen worden getolereerd. De uitspraak over besmette honing geeft impliciet aan dat de introductie van GMO in het milieu in strijd is met artikel 1, 1st protocol, het recht op ongestoord genot van eigendom, Artikel 5 recht op vrijheid en veiligheid en Artikel 8 recht op integriteit van het lichaam.

Reactie: Deze zienswijze is niet gericht op de milieurisicoanalyse, maar heeft in algemene zin betrekking op de keuzevrijheid van burgers. Deze aspecten worden niet meegewogen onder het Besluit GGO. De indieners van deze zienswijze geven niet aan welke risico's voor mens en milieu zij zien. 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. Daarbij heeft de studie met het GGO geen direct verband met honing.

6. De indieners van de zienswijzen vragen zich af hoe zeker het is dat er geen schadelijke effecten op zullen treden, ook voor mens en milieu, afgezien van het feit of er eigenlijk wel enig voordeel voor mensen en dieren zal zijn. Verder vraagt men zich af hoe zeker het is dat het vaccin echt werkt. Het ontwikkelen van een gentech vaccin kan erg gevaarlijk zijn, er is een groot risico vanwege het mogelijke ontstaan van nieuwe ziekteverwekkers met een grotere virulentie en een breder gastheerbereik dan de originele ziekteverwekker. En er is geen mogelijkheid om deze uit het milieu terug te halen. Daarbij verwijzen de indieners van de zienswijzen naar het experiment met de bacterie *Yersinia pseudotuberculosis* en de problematiek rondom Q-koorts, vogelgriep en de gentech tomaten van Calgene.

Reactie: De mogelijk schadelijke effecten voor mens en milieu zijn al behandeld in de reacties op vragen 1 en 3. Uit de milieurisicoanalyse blijkt dat de toepassing van het GGO niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM concludeert in haar advies (CGM/120710-01) dat de risico's van deze studie voor mens en milieu

verwaarloosbaar klein zijn. De vraag of er wel enig voordeel voor mensen en dieren is niet gericht op de milieurisicoanalyse. Deze aspecten worden niet meegewogen onder het Besluit GGO. In de reactie op zienswijze 4 is bovendien reeds aangetekend dat de werkzaamheid van het GGO niet wordt meegewogen onder het besluit GGO.

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. Tot slot is het onduidelijk wat het verband is tussen het experiment met het conditioneel-replicerende adenovirus en de door de indieners van de zienswijzen genoemde kwesties rondom *Yersinia pseudotuberculosis*, Q-koorts, vogelgriep en de gentech tomaten van Calgene.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

7. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar een interview met de emeritus hoogleraar David Suzuki. Volgens David Suzuki zijn de voordelen van GGO's puur speculatief en is het volstrekt onduidelijk wat de gevolgen van toepassing van GGO's (in onder andere onze medicijnen) zullen zijn. Hierdoor zouden onverwachte effecten kunnen optreden. Volgens Suzuki zijn in de wetenschap de meeste van de huidige ideeën verkeerd en zou geld zou de reden zijn om deze ideeën overhaast toe te passen.

Reactie: Deze zienswijze is niet gerelateerd aan de specifieke milieurisico's van de aangevraagde werkzaamheden maar is van algemene aard waarbij wordt verwezen naar een citaat waarin wordt gesteld dat GGO's in zijn algemeenheid onverwachte effecten zullen hebben en de dat de werkzaamheid puur speculatief is. De indieners van de zienswijze geven niet aan welke specifieke risico's voor mens en milieu zij van de onderhavige studie zien. Vergunningaanvragen voor introductie in het milieu van genetisch gemodificeerde organismen worden van geval tot geval uitvoerig beoordeeld. De mogelijk schadelijke effecten voor mens en milieu en de vraag over de werkzaamheid zijn al behandeld in de reacties op vragen 1, 3 en 6. Uit de milieurisicoanalyse blijkt dat de toepassing van het GGO niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM concludeert in haar advies (CGM/120710-01) dat de risico's van deze studie voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Op basis van deze informatie is het Ministerie tot de conclusie gekomen dat de risico's voor mens en milieu van de aangevraagde werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

8. De indieners van de zienswijzen verwijzen naar een fragment uit een artikel in het Nederlands Dagblad ("Medicijnonderzoek deugt niet") waarin wordt gesteld dat onderzoekers onder grote druk staan om tot successen te komen en in dit verband wordt de hoogleraar Huub Schellekens geciteerd: "Ze kunnen vaak de verleiding niet weerstaan en gaan dan maar heel selectief publiceren wat ze gevonden hebben. Dat is de patiënt neppen".

Reactie: De zienswijze is niet gericht op de milieurisicoanalyse, maar is van algemene aard en heeft betrekking op de integriteit van onderzoekers. Het is onduidelijk hoe deze zienswijze betrekking heeft op de onderhavige studie. De indieners van de zienswijze geven niet aan welke specifieke risico's voor mens en milieu zij van de onderhavige studie zien. Werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen mogen op grond van artikel 9.2.2.3 tweede lid, van de Wet milieubeheer alleen worden afgewezen in het belang van de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu, en niet op basis van dergelijke algemene argumenten.

9. De indieners van de zienswijzen zijn van mening dat piloten geen proefpersoon mogen zijn.

Reactie: Het is onduidelijk hoe deze zienswijze betrekking heeft op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan.

Zienswijzen ingebracht door mevrouw Robben (zie bijlage 4):

10. De indiener van de zienswijze is van mening dat door het liberalistische doen en denken de hoofdstoffen van de aarde (de elementen lucht, aarde, water, vuur, hout en metaal) worden afgebroken. De indiener van de zienswijze is van mening dat door chemische stoffen de elementen worden afgebroken en dat er teveel geëxperimenteerd wordt met chemische stoffen op de elementen. De elementen worden uit hun evenwicht gebracht en dat heeft gevolgen voor het klimaat en het milieu.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

Reactie: De zienswijze heeft betrekking op de toepassing van chemische stoffen. Het is onduidelijk hoe deze zienswijze betrekking heeft op de onderhavige studie met het conditioneel-replicerende adenovirus Ad[I/PPT-E1A]. De indiener van de zienswijze geeft niet aan welke specifieke risico's voor mens en milieu zij van de onderhavige studie ziet. 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. De COGEM concludeert in haar advies (CGM/120710-01) dat de risico's van de onderhavige studie voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Op basis van deze informatie is het Ministerie tot de conclusie gekomen dat de risico's voor mens en milieu van de aangevraagde werkzaamheden verwaarloosbaar klein zijn.

11. De indiener van de zienswijze is van mening dat door het liberalistische doen en denken gelovigen van hun geloof zijn gevallen en dat het liberalistische denken ethisch onverantwoord is. Hierdoor zouden er andere geschreven grondwetten moeten komen dan de huidige liberale grondwetten.

Reactie: De zienswijze is niet gericht op de milieurisicoanalyse, maar is van levensbeschouwelijke en constitutionele aard. Dit aspect wordt niet meegewogen onder het Besluit GGO. De indiener van de zienswijze geeft niet aan welke specifieke risico's voor mens en milieu zij van de onderhavige studie ziet. 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.

12. De indiener van de zienswijze is van mening dat de medische wereld probeert van iets wat levenloos is leven te maken met een product uit de farmaceutische industrie.

Reactie: Het is onduidelijk hoe deze zienswijze betrekking heeft op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan. De indiener van deze zienswijze geeft niet aan welke risico's voor mens en milieu zij ziet. 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.

13. De indiener van de zienswijze is van mening dat gedragswetenschappelijk is bewezen dat het gedrag bepalend is in welke omgeving het organisme zich begeeft. Daarnaast is de indiener van de zienswijzen van mening dat het leven een afstemming is op natuur en niet van een individu.

Reactie: Het is onduidelijk hoe deze zienswijzen betrekking hebben op de onderhavige studie. Daarom wordt niet inhoudelijk op deze zienswijze ingegaan. De indiener van deze zienswijze geeft niet aan welke risico's voor mens en milieu zij ziet. 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.

9. CONCLUSIE

Zowel voor de gebruikte Ad5 vector als voor de hierin gekloneerde E1A sequentie van Ad2 is geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. Verspreiding van het GGO in het milieu via bijvoorbeeld excreta kan niet worden uitgesloten. 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 echter ook dan 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 12-002/00.b.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 12-002/00.b.1

- I Aan het Erasmus Universitair Medisch Centrum te Rotterdam een vergunning te verlenen als bedoeld in artikel 23 van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer.

- II Aan de vergunning, waarvan de op 10-02-2012 ingediende vergunningaanvraag en de daarbij behorende stukken deel uitmaken, worden de hierna volgende voorschriften verbonden:

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. Staatssecretaris: Staatssecretaris van Infrastructuur en Milieu, p.a. Directie Veiligheid en Risico's, Postbus 30945, 2500 GX Den Haag;
- d. Ad2: humaan adenovirus serotype 2;
- e. Ad5: humaan adenovirus serotype 5;
- f. CAR: coxsackie en adenovirus receptor;
- g. I/PPT: prostaat-specifiek regulator element betsaande uit de muis H19 insulator (I) en drie humane prostaat-specifieke elementen: de prostaat specifieke antigen (PSA) enhancer, de prostaat specifieke membraan antigen (PSMA) enhancer en de T-cell receptor gamma-chain alternate reading frame protein (TARP) promoter (tezamen PPT);
- h. PCR: polymerase chain reaction;
- i. vp: virale partikels.

2. Toegestane werkzaamheden

1. De onderhavige vergunning heeft uitsluitend betrekking op de in de aanvraag beschreven werkzaamheden met het genetisch gemodificeerde adenovirale vector Ad[I/PPT-E1A], in de gemeente Rotterdam.
2. Jaarlijks mogen werkzaamheden als bedoeld in het eerste lid uitsluitend doorgang vinden:
 - a. 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;
 - 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 Staatssecretaris is gezonden, of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

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 Staatssecretaris van IenM zijn toegelaten. Deze functionarissen zijn deskundig met betrekking tot de werkzaamheden waarvoor deze vergunning is verleend.

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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 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 datum en op welke locatie de werkzaamheden van start gaan en hoeveel patiënten worden geïncorporeerd.

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 Staatssecretaris 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 Staatssecretaris 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 Staatssecretaris 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 IenM, 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 Staatssecretaris 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://bggo.rivm.nl>.

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 toezichhoudende 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).

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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 Wet milieubeheer, betreffende de voorschriften bedoeld in de voorgaande artikelen.

30 augustus 2012,

DE STAATSSECRETARIS VAN INFRASTRUCTUUR EN MILIEU,

namens deze,

de directeur Veiligheid en Risico's,



drs. ing. Peter Torbijn

BESCHRIJVING VAN VOORGENOMEN WERKZAAMHEDEN

Dit document mag geen vertrouwelijke gegevens bevatten

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

1. ALGEMENE GEGEVENS

- 1.1. Nummer van de vergunning: IM 12-002
- 1.2. Het kalenderjaar waarvoor deze beschrijving van voorgenomen werkzaamheden geldt:
- 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):

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 verwerpingscriteria waaraan de batch voldoet:
- 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:
- 2.5. Beschrijf via welke toedieningsweg(en) het GGO aan de patiënt of proefpersoon wordt toegediend:
- 2.6. Vermeld het aantal patiënten of proefpersonen die reeds in de studie opgenomen zijn en vermeld het aantal patiënten of proefpersonen 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 (patiënten of proefpersonen) materiaal afkomstig uit deze studie:
 - de plaats waar het logboek kan worden ingezien:
- 2.8. Geef de locatie (bezoekadres) waar patiënten worden behandeld en gehospitaliseerd:
- 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

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

1. ALGEMENE GEGEVENS

- 1.1. Vermeld het nummer van de vergunning. IM 12-002

De volgende gegevens moeten in het logboek worden opgenomen:

**Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1**

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 iedere geïnccludeerde patiënt of proefpersoon de resultaten van tests waaruit blijkt dat de patiënt voldoet aan de in de vergunning gestelde in- en exclusiecriteria
- 2.4. 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
- 2.5. 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: IM 12-002
- 1.2. Jaar van verslaglegging:

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1

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 patiënten of proefpersonen dat
 - in de verslagperiode nieuw is geïnccludeerd:
 - reeds eerder werd geïnccludeerd, en dit jaar nog deelnam aan het onderzoek:
 - in de toekomst nog geïnccludeerd kan worden:
- 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:
- 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:

NAMEN VAN DE 27 PERSONEN DIE ZIENSWIJZEN HEBBEN INGEDIEND

1. M. Bos te Lelystad, ook namens (Gentechvrije) Burgers, Stichting Ekopark, Stichting Natuurwetmoeders en Stichting VoMiGEN
2. Ludwig te Lelystad
3. M. v.d. Sloot te Lelystad
4. M.C. Dorjee te Lelystad
5. J. van Nieukerken-de Wilde te Almere
6. T. Tromp te Lelystad
7. J. Verwaaijen te Lelystad
8. A. v.d. Paauw te Lelystad
9. M. Fellinginger te Lelystad
10. B. de Bruin te Lelystad
11. M.L. Wullens te Lelystad
12. P. Berben te Lelystad
13. W. de Geus te Lelystad
14. E. van Steyn te Lelystad
15. J. Paashuis te Lelystad
16. R. van Dijk te Lelystad
17. C. Wiersma te Lelystad
18. M. van Weegberg te Lelystad
19. E.M.T. Mast te Bussum
20. I. Bots te Lelystad
21. A. de Harde te Lelystad
22. M. Out te Lelystad
23. D. Hoek te Lelystad
24. J. van Hulst te Lelystad
25. B. Bokhorst te Lelystad
26. M. Lieve te Lelystad
27. R. Robben te Zwolle

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

Ons kenmerk
IM 12-002/00.b.1