



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

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

RIVM/VSP/Bureau GGO  
Antonie van  
Leeuwenhoeklaan 9  
Postbus 1  
3720 BA Bilthoven  
[www.ggo-  
vergunningverlening.nl](http://www.ggo-vergunningverlening.nl)

**Contactpersoon**  
Bureau GGO

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

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

**Uw kenmerk**

# Beschikking GGO IM-MV 18-015\_000

## 1. AANLEIDING<sup>1</sup>

1.1 De Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat (hierna: de Staatssecretaris) heeft op 14 september 2018 een aanvraag, gedateerd 12 september 2018, van het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam te Rotterdam ontvangen. Deze aanvraag heeft het kenmerk IM-MV 18-015.

1.2 Het gaat om een aanvraag om een vergunning voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden, als bedoeld in artikel 3.7, eerste lid, van het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (hierna: Besluit ggo). De aanvraag heeft betrekking op een klinische studie in patiënten met Hemofilie A (bloederziekte). Hemofilie A is een ernstige, erfelijke bloedziekte veroorzaakt door een tekort aan functioneel factor VIII (FVIII). De ziekte treft ongeveer 1 op de 5.000 mannelijke pasgeborenen. Factor VIII is een eiwit dat noodzakelijk is voor bloedstolling. De ernst van de ziekte is afhankelijk van de resterende hoeveelheid FVIII die in de bloedbaan aanwezig is.

1.3 In deze studie wordt gebruik gemaakt van een replicatiedeficiënt genetisch gemodificeerd adenovirus-geassocieerd virus (rAAV), waarin een sequentie is ingebracht die codeert voor de humane factor VIII sequentie waarvan het B-domein verwijderd is (hFVIII-BDD). Het hFVIII-BDD eiwit heeft een vergelijkbare activiteit als het volledige eiwit, en is commercieel verkrijgbaar als recombinant eiwit om hemofilie A te behandelen. De virale vector, BAY 2599023/DTX201, is door verwijdering van een aantal virale genen replicatiedeficiënt gemaakt, waardoor het virus zich in de cel niet kan vermenigvuldigen. BAY 2599023/DTX201 is ontworpen om de hFVIII-BDD sequentie in levercellen van patiënten met hemofilie A te introduceren, waar het stabiele expressie van hFVIII-BDD zal bewerkstelligen. Herstelde, stabiele expressie van functioneel FVIII zal zorgen voor vermindering van bloedingsverschijnselen en een verbeterde kwaliteit van leven van de patiënten. De doelen van deze klinische studie zijn om de veiligheid en verdraagbaarheid van intraveneuze toediening van BAY 2599023/DTX201 te evalueren in patiënten met ernstige hemofilie A, en om langdurige expressie van hFVIII-BDD te bewerkstelligen.

1.4 De voorgenomen werkzaamheden zullen plaatsvinden in de gemeente Rotterdam.

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

## **2. BEOORDELINGSKADER**

2.1 Een studie waarbij genterapie wordt toegepast in proefpersonen valt onder de doelbewuste introductie voor overige doeleinden. Zie ook paragraaf 8.3 van de nota van toelichting bij het Besluit ggo.

### ***Wettelijk kader***

2.2 Het wettelijk beoordelingskader voor aanvragen om een vergunning voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden bestaat uit paragraaf 9.2.2 van de Wet milieubeheer en hoofdstuk 3 van het Besluit ggo.

2.3 Uit artikel 3.2, eerste lid, van het Besluit ggo volgt de bevoegdheid om te beslissen op aanvragen om een vergunning als bedoeld in dat artikel voor de doelbewuste introductie voor overige doeleinden.

2.4 Een vergunning voor de doelbewuste introductie voor overige doeleinden kan slechts om een beperkt aantal redenen worden geweigerd (zie artikel 9.2.2.3, tweede lid, van de Wet milieubeheer). Het belang van de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu is in dit geval het enige, rechtstreeks bij deze beschikking betrokken belang dat kan worden meegewogen. Voorschriften en beperkingen mogen slechts in het belang van de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu aan de vergunning worden verbonden (zie artikel 9.2.2.3, vijfde lid, van de Wet milieubeheer).

## **3. PROCEDURELE ASPECTEN**

3.1 De aanvraag moet onder meer een milieurisicobeoordeling bevatten overeenkomstig bijlage II bij richtlijn nr. 2001/18/EG van het Europees Parlement en de Raad van de Europese Unie van 12 maart 2001 inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu en tot intrekking van richtlijn nr. 90/220/EEG van de Raad van de Europese Gemeenschappen van 23 april 1990 (PbEU L 106) (hierna: richtlijn 2001/18), zoals aangevuld met daarop betrekking hebbende besluiten of aanbevelingen van de Raad van de Europese Unie of van de Europese Commissie. Zie ook de definitie van "milieurisicobeoordeling" in artikel 1.5 van het Besluit ggo.

3.2 De aanvraag is getoetst aan de milieurisicobeoordeling over de risico's voor mens en milieu die aan de voorgenomen handelingen met ggo's verbonden kunnen zijn.

3.3 De aanvraag is aangevuld. De aanvullingen zijn ontvangen op 15 oktober 2018 en op 16 oktober 2018.

3.4 De aanvraag, inclusief de aanvullende informatie, is gecontroleerd op volledigheid. Deze beschikking is gebaseerd op een volledige aanvraag.

3.5 Een deel van de bijlagen bij de aanvraag is door de aanvrager als vertrouwelijk gekenmerkt. Op grond van Artikel 19.3 van de Wet milieubeheer heeft de Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat 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.

3.6 Deze beschikking is voorbereid met toepassing van afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht, afdeling 13.2 van de Wet milieubeheer, en de paragrafen 3.2.1 en

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's**

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

3.2.2 van het Besluit ggo. De toepassing van afdeling 3.4 van de Algemene wet bestuursrecht en afdeling 13.2 van de Wet milieubeheer is in overeenstemming met artikel 9.2.2.3, vierde lid, van de Wet milieubeheer.

3.7 Bij de voorbereiding van deze beschikking is ook toepassing gegeven aan artikel 3.10, eerste lid, van het Besluit ggo. Ingevolge deze bepaling wordt binnen 30 dagen na ontvangst van de aanvraag een samenvatting van de aanvraag aan de Europese Commissie gezonden. Bij de beslissing op de aanvraag neemt de Staatssecretaris in aanmerking de opmerkingen die andere lidstaten van de Europese Unie hebben gemaakt (artikel 3.10, tweede lid, tweede volzin, van het Besluit ggo).

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

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

##### **4.1. Het uitgangsgenoom (AAV)**

###### *Algemeen:*

De virale vector die in deze studie wordt gebruikt is afgeleid van een humaan *Adeno-associated Virus* subtype 2 (AAV2). AAV behoort tot de familie *Parvoviridae*, genus *Dependovirus*, en is een enkelstrengs DNA virus zonder envelop. Het *Adeno-associated Virus* (AAV) is afhankelijk van een helpervirus voor replicatie. Van onder andere *Adenovirus* en *Herpes simplex virus* (HSV) is bekend dat zij voor AAV als helpervirus kunnen optreden. Het wildtype AAV virus bezit een tweetal genen, *rep* en *cap*, die verantwoordelijk zijn voor de replicatie en voor de vorming van het manteleiwit van het virus. De *rep* en *cap* genen zijn omgeven door twee zogenaamde *Inverted Terminal Repeats* (ITR's). Deze ITR's zijn nodig voor het inpakken van het genetisch materiaal in de virusmantel en de integratie in het gastheergenoom. De ITR's hebben ook een functie bij replicatie van AAV. Het helpervirus zorgt ervoor dat de geïnfecteerde cel in een zodanige fysiologische staat wordt gebracht dat vermenigvuldiging van AAV mogelijk wordt.

Infecties met AAV komen bij mensen veelvuldig voor. Ruim 90% van de volwassen mensen is seropositief voor AAV. Infecties met AAV worden niet in verband gebracht met een ziektebeeld. Er zijn verschillende serotypen van AAV bekend welke onder andere verschillen in gastheerspecificiteit en weefsel tropisme. Omdat een infectie met AAV niet in verband gebracht wordt met enig ziektebeeld, wordt AAV gezien als een zeer geschikt uitgangsvirus voor vectoren voor genterapie.

###### *Infectie, replicatie en uitscheiding*

De meest waarschijnlijke infectieroutes van AAV verlopen via de luchtwegen en via de fecaal-orale route. De primaire route van overdracht is via contact met slijmvliezen. Verticale overdracht van AAV (kiembaantransmissie) is niet aangetoond in preklinische studies of in de literatuur beschreven, echter kan niet 100% worden uitgesloten. AAV2 kenmerkt zich door een breed celtropisme (spieren, hersenen, longen, lever). Daarnaast wordt AAV gekenmerkt door een hoge stabiliteit buiten de gastheer. AAV kan integreren in het genoom van de gastheercel en kan daar latent aanwezig blijven. Latent wildtype AAV2 kan bij aanwezigheid van een helpervirus gereactiveerd worden. De beoogde genetisch gemodificeerde vector is replicatiedeficiënt ten gevolge van de ontbrekende *rep* en *cap* genen.

##### **4.2. De insertie (hFVIII-BDD)**

De insertie bestaat uit een expressiecassette met daarin de codon geoptimaliseerde sequentie coderend voor het humane factor VIII eiwit waaruit het B-domein is gedeleteerd. Het FVIII eiwit is een eiwit dat circuleert in de bloedbaan en is cruciaal voor bloedstolling. Het hFVIII-BDD eiwit heeft een vergelijkbare activiteit als het volledige eiwit, en is commercieel verkrijgbaar als recombinant eiwit om hemofilie A te behandelen.

### 4.3. Het ggo

#### *Constructie*

Voor de constructie van het ggo is een AAV serotype 2 uitgangsvector gebruikt. Deze uitgangsvector, AAV *rep-/cap-*, kan zich, door afwezigheid van *rep* en *cap* genen niet vermenigvuldigen. De ITR's zijn de enige AAV sequenties die nog aanwezig zijn in de uitgangsvector. Deze ITR's zijn niet-coderende sequenties die een rol spelen in de replicatie en de vorming van virusdeeltjes. Tussen deze twee ITR's is de hFVIII-BDD expressiecassette opgenomen.

De expressiecassette bevat naast de hFVIII-BDD sequentie een muizen transthyretin enhancer (enTTR), een humane transthyretin promotor (TTRpro) en een humaan alpha-2 globine polyadenylatie (polyA) signaal. Via de enTTR/TTRpro enhancer/promoter sequentie wordt een lever-specifieke expressie van het transgen hFVIII-BDD bewerkstelligd. Het polyA signaal stabiliseert het mRNA en is nodig voor efficiënte translatie van het hFVIII-BDD mRNA transcript. Al deze regulatorische sequenties worden niet vertaald in een eiwit.

De virale vector is afgeleid van een AAV serotype 2 (AAV2) vector, maar het virusdeeltje heeft capsid eiwitten afkomstig van het humane AAV serotype hu37 (AAVhu37) virus. Dit serotype behoort tot dezelfde groep virussen als AAV8; groep E. AAVs behorend tot groep E hebben een sterk tropisme voor de lever.

#### *Virulentie*

Het ggo (BAY 2599023/DTX201) is replicatiedeficient, dat wil zeggen dat het ggo niet in staat is zich zelfstandig te vermeerderen door het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Een virusdeeltje kan een cel slechts éénmaal infecteren. Het genproduct van de geïntroduceerde hFVIII-BDD sequentie kan niet in verband worden gebracht met een functie in de virusbiologie van de vector. Het is daarom niet te verwachten dat het transgen de functie van de vector op een of andere manier zal beïnvloeden. Doordat het capsid van het virusdeeltje bestaat uit AAVhu37 eiwitten zal het gastheerbereik en weefsel tropisme hetzelfde zijn als voor wildtype AAVhu37. Door het replicatie defectieve karakter is de vector verminderd persistent in vergelijking tot het wildtype AAV.

### 4.4. Beschrijving van het onderzoek

Het onderzoek zal plaatsvinden in het Erasmus Medisch Centrum te Rotterdam. In totaal zullen maximaal 50 patiënten in de studie opgenomen worden. De toediening van het ggo aan de patiënt vindt plaats op een patiëntenafdeling van de afdeling hematologie van het Erasmus Medisch Centrum. Een enkele dosis van het ggo van maximaal  $3 \times 10^{13}$  genoomkopieën per kilogram zal intraveneus aan een patiënt worden toegediend. Het medisch personeel dat BAY 2599023/DTX201 toedient zal beschermende kleding dragen.

Na toediening van het ggo aan de patiënt zal de behandelkamer worden schoongemaakt met een desinfectans, waarbij gebruikte oppervlakten worden gereinigd met een 250 ppm chlooroplossing. Om medische redenen dienen patiënten minimaal 8 uur in het ziekenhuis te verblijven na toediening van het ggo.

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

#### *Productie en vervoer*

De productie van het ggo vindt plaats in het buitenland en maakt geen onderdeel uit van de onderhavige aanvraag.

Het ggo wordt geproduceerd in HeLa 21C5 cellen, welke afgeleid zijn van de humane baarmoederhalstumor cellijn HeLa S3 en stabiel getransfecteerd met het plasmide pDTX.hFVIIIco-SQ.201. Deze plasmide bevat het AAV vectorgenoom bestaande uit de hFVIII-BDD expressiecassette met daarin het transgen. De expressiecassette wordt geflankeerd door twee van AAV2 afkomstige ITRs. Infectie van deze HeLa 21C5 packaging cellijn met wildtype adenovirus type 5 (Ad5) resulteert in productie van de virale vector BAY 2599023/DTX201. AAV2 Rep en AAVhu37 Cap eiwitten worden hierbij tot expressie gebracht vanaf het plasmide, wildtype Ad5 is verantwoordelijk

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

voor de helpereiwitten benodigd voor replicatie van het vectorgenoom. Expressie van de Rep en Cap eiwitten door de cellen resulteert in replicatie en packaging in nieuw gevormde capsid partikels van het vectorgenoom. Het resultaat van dit proces is een recombinant en replicatiedeficiënt BAY 2599023/DTX201 partikel dat alleen de transgen expressiecassette bevat geflankeerd door de twee ITRs.

Wildtype Ad5 is commercieel verkrijgbaar. Dit Ad5 is geproduceerd onder *Good Manufacturing Practices* (GMP) in HeLa S3 cellen.

Kwaliteitscontroles die worden uitgevoerd op het uiteindelijke ggo dat zal worden toegediend hebben onder andere betrekking op de titer van het ggo, de identiteit van het ggo, de aanwezigheid van infectieus en niet-infectieus adenovirus en de aanwezigheid van residueel DNA (gastheercel of adenovirus DNA). Daarnaast wordt een batch getest op steriliteit en moeten virale en niet-virale verontreinigingen afwezig zijn.

Na productie wordt het ggo getransporteerd naar het Erasmus Medisch Centrum. Hier wordt het ggo in ontvangst genomen en opgeslagen in overeenstemming met de Regeling ggo 2013, Bijlage 9.3.2.2. Het ggo wordt in de ziekenhuisapotheek in een biologisch veiligheidskabinet klasse 2 gereed gemaakt. Tijdens de preparatie van het ggo draagt het personeel beschermende kleding en handschoenen. Transport naar de afdeling waar het ggo zal worden toegediend gebeurt conform Bijlage 1.1 van de Regeling ggo 2013.

#### *Monstername en -analyse*

Na toediening van het ggo zullen bloed-, speeksel-, urine-, feces-, en spermamonsters afgenomen worden voor studie doeleinden en om vectorgenoom niveaus te bepalen. Monsterafname vindt plaats op de patiëntenafdeling of een andere afdeling van het ziekenhuis. Voor handelingen met de monsters worden geen bijzondere veiligheidsmaatregelen genomen. Alle monsters zullen worden behandeld als mogelijk infectieus patiëntenmateriaal. Personeel draagt een laboratoriumjas of uniform. Voor transport, verwerking en/of opslag van deze monsters zijn geen additionele maatregelen nodig.

Gebaseerd op klinische studies met recombinant AAV8 wordt vector DNA verwacht in bloed-, speeksel-, urine-, feces- en spermamonsters gedurende 1 tot 7 weken na toediening van BAY 2599023/DTX201 aan de proefpersoon.

#### *Afval en besmet materiaal*

Alle wegwerpbaar materialen die in aanraking komen met BAY 2599023/DTX201 worden afgevoerd in vaten voor specifiek ziekenhuisafval (UN3291). Niet wegwerpbaar materialen worden na gebruik schoongemaakt met een geschikt desinfectans en/of worden geautoclaveerd.

In geval van morsen wordt gedesinfecteerd met een 1000 ppm chlooroplossing.

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

Het ggo dat in deze studie aan de patiënten toegediend wordt is gebaseerd op een AAV vector. Op basis van experimenten in proefdieren en klinische studies met vergelijkbare vectoren, wordt verwacht dat het ggo niet of in het ergste geval (in aanwezigheid van een helpervirus) tijdelijk kan repliceren in mensen. In aanwezigheid van een helpervirus kunnen kleine hoeveelheden virusdeeltjes vrijkomen, deze hoeveelheden zijn vele malen kleiner dan de hoeveelheden die bij de behandeling van de patiënt worden toegediend. Verspreiding in het milieu kan voornamelijk plaatsvinden tijdens de toediening en kort nadat het ggo aan de patiënten is toegediend. Hierdoor kunnen derden blootgesteld worden aan het ggo en kan een infectie van derden niet worden uitgesloten. De hoeveelheid vrijgekomen vectordeeltjes zal echter vele malen kleiner zijn dan de hoeveelheden die tijdens de behandeling aan de patiënt worden toegediend. Aangezien het beoogde ggo niet in staat is tot replicatie zal een eventuele infectie uitdoven.

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

## 5. MILIEURISICOBEOORDELING

De milieurisicobeoordeling 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 milieurisicobeoordeling is bij de aanvraag gevoegd.

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

### 5.1. Algemeen

In de milieurisicobeoordeling wordt beoordeeld of en hoe derden blootgesteld kunnen worden aan het ggo, en of vervolgens infectie van derden met het ggo op kan treden. Daarnaast wordt ook in beschouwing genomen welke schadelijke effecten op kunnen treden als derden geïnfecteerd raken met het ggo.

### 5.2. Het GGO

#### *Persistentie, invasiviteit en selectieve voordelen*

In de virale vector BAY 2599023/DTX201 zijn de *rep* en *cap* genen verwijderd die essentieel zijn voor replicatie van het virus. Deze deleties leiden niet tot een schadelijk effect zoals een verhoogde persistentie of invasiviteit. Integendeel, ze leiden tot een verlaagde persistentie en invasiviteit aangezien de virale vector vanwege deze deleties replicatiedeficiënt is. Er zijn, mede gezien de normale functie van het FVIII eiwit in de mens, geen redenen om aan te nemen dat FVIII effecten heeft op de virusbiologie van AAV of dat het eiwit de functies van de *rep* en *cap* genen kan complementeren. Expressie van hFVIII-BDD door de virale vector kan daarom niet leiden tot vorming van nieuwe virusdeeltjes. Doordat het capsid van het virusdeeltje bestaat uit AAVhu37 eiwitten zal het gastheerbereik en weefsel tropisme hetzelfde zijn als voor wildtype AAVhu37. Uit preklinische studies blijkt dat de biodistributie van het ggo vergelijkbaar is met andere AAV vectoren.

#### *Recombinante AAV virusdeeltjes in het productieproces*

Recombinatie tijdens het productieproces kan in theorie een hybride sequentie met van AAV afkomstige *rep* en *cap* sequenties en de hFVIII-BDD expressiecassette opleveren. De maximale packaging capaciteit van AAV capsiden is ongeveer 5 kilobasen (kb) en de *rep*, *cap* en ITR sequenties zijn al 4.7 kb. Toevoeging van de hFVIII-BDD expressiecassette zal de maximale packaging capaciteit van AAV overstijgen waardoor deze hybriden niet kunnen worden ingepakt in wildtype AAV capsiden. Er is geen sequentie homologie tussen de AAV ITRs aanwezig in de virale vector en de overige AAV sequenties aanwezig op het plasmide, waardoor de kans op homologe recombinatie verwaarloosbaar klein is. Bovendien zal een replicatiecompetent AAV virus, indien gevormd, nog steeds afhankelijk zijn van een helpervirus.

Tijdens de productie van BAY 2599023/DTX201 wordt infectieus adenovirus type 5 gebruikt, dat kan dienen als helpervirus. Een batch BAY 2599023/DTX201 wordt alleen vrijgegeven indien er geen infectieus adenovirus is aangetoond.

Tijdens de productie van de virusbatch kunnen gastheercelsequenties van de productiecellen en productiesysteem gerelateerde sequenties (bijvoorbeeld AAV *rep*, HeLa DNA, humaan papillomavirus (HPV) E6 of E7 DNA) terechtkomen in al dan niet infectieuze AAV virusdeeltjes. Dit is een bekend fenomeen voor recombinante AAV vectoren die in andere klinische studies worden toegepast. Ondanks de aanwezigheid van lage hoeveelheden van deze sequenties zijn er geen veiligheidsissues gerapporteerd bij gebruik van recombinante AAV vectoren geproduceerd in HeLa cellen. HPV E6 en E7 sequenties zullen niet integreren in de gastheercel en niet episomaal aanwezig blijven doordat deze sequenties niet geflankeerd worden door AAV ITRs. Bovendien is gebleken dat niet-vectorgerelateerde sequenties niet tot

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

expressie komen. Om de aanwezigheid van dergelijke niet-vector gerelateerde sequenties te detecteren wordt de virusbatch gecontroleerd met kwantitatieve polymerase-kettingreactie (qPCR) assays specifiek voor deze sequenties. De aanwezigheid van residueel DNA is geen onderdeel van de acceptatiecriteria.

#### *Genoverdracht*

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

Daarnaast is er een theoretische kans dat in de patiënt door recombinatie replicatie-competent AAV (rcAAV) ontstaan met daarin sequenties van bijvoorbeeld een helpervirus of een andere sequentie. Recombinatie tussen de vector en wildtype AAV zal alleen resulteren in uitwisseling van homologe sequenties zoals de ITRs. Hierdoor kunnen de *rep* en *cap* genen van het wildtype AAV uitgewisseld worden met de hFVIII-BDD expressiecassette van het ggo. De ontstane virusdeeltjes bevatten de hFVIII-BDD expressiecassette, maar zullen door de afwezigheid van de *rep* en *cap* genen nog steeds replicatiedeficiënt zijn.

#### *Verticale transmissie*

Er zijn geen redenen om aan te nemen dat transmissie van het genetisch materiaal via de kiembaan (verticale transmissie) plaats zal vinden. Dit kan echter niet volledig worden uitgesloten.

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

Onbedoelde blootstelling van derden aan het ggo kan resulteren in expressie van het humane FVIII eiwit waaruit het B-domein gedeleteerd is en inductie van een immuunrespons tegen de BAY 2599023/DTX201 capsid eiwitten. Het hFVIII-BDD eiwit zal specifiek tot expressie worden gebracht in de lever. Verhoogde FVIII niveaus kunnen leiden tot trombose.

Uit eerdere preklinische studies blijkt dat er geen schadelijke effecten van hFVIII-BDD overexpressie zijn waargenomen in diermodellen. Uit behandeling van hemofilie A patiënten met ReFacto, het recombinante eiwitproduct waarvoor het ggo codeert, blijkt geen negatief effect na langdurig gebruik, of in geval van overdosering. AAV is niet pathogeen.

Een afweerreactie tegen AAVhu37 capsid eiwitten zal asymptomatisch zijn, op dezelfde manier als dat een natuurlijk voorkomende infectie met AAV een asymptomatische afweerreactie induceert.

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

Na toediening zal het ggo slechts gedurende beperkte tijd in het milieu terecht kunnen komen door shedding. Gebaseerd op klinische studies met recombinant AAV8 wordt vector DNA verwacht in bloed-, speeksel-, urine-, feces- en spermamonsters gedurende 1 tot 7 weken na toediening van BAY 2599023/DTX201 aan de proefpersoon. Het aanwezig zijn van ggAAV DNA sequenties hoeft niet te betekenen dat ook daadwerkelijk infectieuze partikels aanwezig zijn. Preklinische studies met recombinant AAV laten zien dat urine geen infectieuze AAV partikels bevat en dat

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

infectieuze vectordeeltjes beperkt zijn tot het plasma en verwijderd zijn uit de circulatie binnen 48 tot 72 uur na toediening.

De kans dat derden geïnfecteerd raken met het ggo en daarmee trombose ontwikkelen is onwaarschijnlijk. Er wordt een normalisatie van het fenotype beoogd in de onderhavige studie (expressieniveaus < 150%), en de gehanteerde dosis wordt aangepast om beneden de 150% te blijven.

Doordat de beoogde virale vector replicatiedeficiënt is, de kans op vorming van rcAAV zeer onwaarschijnlijk is, en rcAAV, indien dit gevormd wordt, alsnog afhankelijk is van helpervirusinfectie zal deze voor een beperkte tijd in het lichaam aanwezig blijven. Het ggo heeft een brede biodistributie en het is aannemelijk dat shedding zal optreden. Echter, de concentraties van het ggo die in het milieu terecht zullen komen zullen vele malen lager zijn dan de toegediende dosis. Doordat de hoeveelheid van het ggo in derden vele malen kleiner zal zijn dan in patiënten, is de kans op negatieve effecten verkleind ten opzichte van de situatie in patiënten.

Ook voor de aanwezigheid van virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties geldt dat deze slechts een beperkte tijd in de patiënt aanwezig blijven en tijdelijk kunnen worden uitgescheiden in het milieu. In het onwaarschijnlijke geval dat derden worden blootgesteld aan AAV virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties, zoals het *rep* gen of gastheer cel DNA, zijn er geen nadelige effecten te verwachten omdat *rep* sequenties van nature in AAV virusdeeltjes voorkomen. Wildtype AAV heeft geen pathogene eigenschappen en van het gebruik van HeLa cellen als productiecellijn voor gg AAV zijn geen veiligheidsissues gerapporteerd. Van de volwassen humane populatie is 90% seropositief voor AAV waardoor AAV virusdeeltjes met bijvoorbeeld een *rep* gen door het afweersysteem herkend en afgebroken worden. Daarnaast zijn deze deeltjes hoogstwaarschijnlijk replicatiedeficiënt, aangezien de packaging capaciteit van AAV beperkt is en het onwaarschijnlijk is dat door recombinatie een AAV wordt gevormd dat *rep*, *cap* én een additionele, functionele sequentie bevat. In het onwaarschijnlijk geval dat een eventuele infectie van derden optreedt zal dit een uitdovend effect zijn. De kans op nadelige effecten in derden van recombinante AAV virusdeeltjes met niet-vector gerelateerde sequenties is daarom verwaarloosbaar klein.

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

AAV is niet pathogeen. Na toediening zal het ggo slechts gedurende korte tijd in het milieu terecht kunnen komen door shedding. Doordat de beoogde virale vector replicatiedeficiënt is, zullen de virale partikels voor een beperkte tijd in het lichaam aanwezig blijven. De waarschijnlijkheid dat derden geïnfecteerd worden met in de patiënt ontstane recombinante virussen met veranderde eigenschappen is verwaarloosbaar klein. Daarbij zijn in preklinische studies geen nadelige effecten van overexpressie van hFVIII-BDD gevonden en is bij behandeling van hemofilie A

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1



patiënten met ReFacto, het recombinante eiwitproduct waarvoor het ggo codeert, geen negatief effect na langdurig gebruik gebleken, of in geval van overdosering.

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

In de bovenstaande overwegingen wordt geconcludeerd dat voor de gebruikte virale vector BAY 2599023/DTX201 de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De beoogde virale vector is replicatiedeficiënt en zal daardoor tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. Er is geen sequentie homologie tussen de AAV ITRs aanwezig in de virale vector en de overige AAV sequenties aanwezig op het plasmide, waardoor de kans op homologe recombinatie tijdens productie van het ggo verwaarloosbaar klein is. AAV infecties komen veelvuldig voor, over de hele wereld, zonder dat daarmee enig ziektebeeld in verband wordt gebracht. Zowel voor de gebruikte AAV vector als voor de hierin gekloneerde hFVIII-BDD sequentie is geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn. De kans dat recombinatie en/of complementatie optreedt met andere virussen waardoor infectieuze recombinante virussen ontstaan is zeer klein. De kans dat dit leidt tot schadelijke gevolgen in derden is verwaarloosbaar klein.

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

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

Het optreden van AAV kiembaantransmissie is niet aangetoond in preklinische studies en ook niet in de literatuur beschreven, maar kan echter niet volledig worden uitgesloten. Om de potentiële kans op kiembaantransmissie helemaal uit te sluiten geeft de aanvrager aan dat behandelde patiënten vereist worden een dubbele barrière anticonceptie methode te gebruiken in de periode na toediening van BAY 2599023/DTX201 totdat één spermamonster negatief is bevonden voor de aanwezigheid van BAY 2599023/DTX201 vector DNA. De gebruikte test zal een detectielimiet hebben van minimaal 50 genoomkopieën per reactie. Tevens geeft de aanvrager aan dat behandelde patiënten niet zullen optreden als spermadonor zolang dit wordt aangegeven door de onderzoeker. Spermabemonstering start 6 weken na behandeling. Daarnaast worden patiënten die behandeld zijn met het ggo uitgesloten van het doneren van bloed, organen, weefsels en cellen voor transplantatie.

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

In Bijlage II, onder D1, van de richtlijn 2001/18 wordt een aantal punten opgesomd die, waar passend, dienen als basis voor de conclusies over de mogelijke milieueffecten van de voorgenomen introductie van de ggo's in het milieu. Voor de volledigheid van de risicobeoordeling worden al deze punten hieronder opgesomd voor de in deze vergunning aangevraagde werkzaamheden, met hun bijbehorende conclusies.

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

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

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

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

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

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

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

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

Expressie van de hFVIII-BDD sequentie heeft geen effect op het gastheerbereik, de infectiviteit of de pathogeniteit voor potentiële gastheren van het ggo (mensen en dieren) in het milieu. Het ggo is slechts tijdelijk aanwezig in de patiënt als gevolg van het replicatiedeficiënte karakter van de beoogde virale vector wegens het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Er zal productie van het hFVIII-BDD eiwit plaatsvinden in de lever. Er zijn geen pathogene effecten te verwachten die het gevolg zijn van additionele expressie van hFVIII-BDD in derden, buiten het gegeven dat verhoogde FVIII niveaus kunnen leiden tot trombose. Aangezien het beoogde ggo replicatiedeficiënt is zal de virale vector tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het ggo en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein.

**5. Mogelijke onmiddellijke en/of vertraagde effecten op de menselijke gezondheid van mogelijke directe en indirecte interacties tussen het ggo en personen die werken met, in contact komen met of in de nabijheid komen van ggo-introductie**

Expressie van de hFVIII-BDD sequentie heeft geen effect op het gastheerbereik, de infectiviteit of de pathogeniteit voor potentiële gastheren van het ggo (mensen en dieren) in het milieu. Het ggo is slechts tijdelijk aanwezig in de patiënt als gevolg van het replicatiedeficiënte karakter van de beoogde virale vector wegens het ontbreken van de *rep* en *cap* genen. Er zal productie van het hFVIII-BDD eiwit plaatsvinden in de lever. Er zijn geen pathogene effecten te verwachten die het

gevolg zijn van additionele expressie van hFVIII-BDD in derden, buiten het gegeven dat verhoogde FVIII niveaus kunnen leiden tot trombose. Aangezien het beoogde ggo replicatiedeficiënt is zal de virale vector tijdelijk vanuit de patiënt in het milieu terecht kunnen komen. De kans dat derden of niet-doelwitorganismen geïnfecteerd raken met het ggo en dat daardoor een schadelijk effect optreedt, is verwaarloosbaar klein.

## 6. Mogelijke verandering in de staande medische praktijk

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

## 7. ADVIES

De COGEM heeft op 31 december 2018 advies (CGM/181231-03) uitgebracht over de onderhavige ontwerpbeslissing. De COGEM is van oordeel dat de moleculaire karakterisering afdoende is en dat het ggo biologisch ingeperkt is. De COGEM merkt op dat de aanvrager de DTX201 vectorbatch niet analyseert op de aanwezigheid van 'rcAAV'. In het onwaarschijnlijke geval dat er in de vectorbatch 'rcAAV' ontstaat, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein, omdat het virus vergelijkbaar is met wildtype AAV zonder dat er een transgen aanwezig is, en vanwege het feit dat het virus voor zijn replicatie en verspreiding ook nog afhankelijk is van een helpervirus.

De COGEM merkt op dat, als een patiënt met klinische aanwijzingen voor een actieve virale infectie met een AAV gerelateerd helpervirus geïncubeerd wordt, zij de kans verwaarloosbaar klein acht dat er na toediening van DTX201 een drievoudige infectie van één cel kan optreden met DTX201, wildtype AAV en helpervirus. Zij acht daarom ook de kans verwaarloosbaar klein dat door recombinatie of complementatie het genetisch gemodificeerde vectorgenoom door wildtype AAV in samenwerking met helpervirus via de patiënt verder verspreid kan worden. Op basis van milieurisico-overwegingen is zij daarom van oordeel dat het niet noodzakelijk is dat patiënten met klinische verschijnselen van een actieve (helper)virus infectie van de studie worden uitgesloten.

De COGEM kan de kans op blootstelling van derden ten gevolge van uitscheiding van het ggo niet geheel uitsluiten. Zij acht de risico's voor mens en milieu ten gevolge van deze blootstelling echter verwaarloosbaar klein omdat DTX201 zich niet kan repliceren en zich daarom niet kan verspreiden.

Samengevat is de COGEM van oordeel dat de milieurisico's verbonden aan deze klinische studie met DTX201 verwaarloosbaar klein zijn.

## 8. ZIENSWIJZEN

Naar aanleiding van de kennisgeving van de aanvraag en de ontwerpbeslissing zijn zienswijzen ingebracht door:

M. Bos, te Lelystad, namens De Gentechvrije Burgers, een Europees Consumentenplatform, i.o. Stichting Ekopark, i.o. mevr. W. Moody - van Dort en alle andere Gentechvrije Burgers, met ondersteuning van Stichting Natuurwetmoeders

1. De indiener van de zienswijzen geeft aan dat weer de mogelijkheid wordt geboden te reageren op voorgenomen medische gentechproeven op zeer zieke mensen, mannen met hemofilie A en zeer zieke kinderen. Zij geeft aan dat het in alle gevallen experimenten met genen zijn, wat ook wel gokken met genen wordt genoemd. Het meest erbarmelijke is wel de proeven met kinderen, zwaar zieke kinderen (Prinses Maxima Centrum Utrecht). Die mogen nooit als proefkonijn gebruikt worden volgens de

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

opinie van de indiener van de zienswijzen. Kinderen hebben bovendien een andere benadering nodig en reageren niet hetzelfde als volwassenen op medicatie en behandeling.

**Reactie:** De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/181231-03) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

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

Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

Ons kenmerk  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

2. De indiener van de zienswijzen geeft aan dat de vele mislukkingen in het algemeen door deze experimenten, waar ook soms melding van werd gemaakt (soms zelfs met dodelijke afloop) in de database en het niet doorgaan van proeven, of het verkrijgen van teleurstellende resultaten, daarvan boekdelen spreken en zeer verontrustend zijn. De indiener van de zienswijzen geeft aan dat dit experiment moet stoppen.

**Reactie:** De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/181231-03) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

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

3. De indiener van de zienswijzen geeft aan dat veel gentech proeven in de USA toestemming nodig hebben van de FDA. Dit instituut zou het goed vinden dat alleen de wetenschappelijke *papers* en verhandelingen van de industrie genoeg zijn voor toelating. In het begin was dat wel anders. Wetenschappers van de FDA zelf waarschuwden voor de schadelijke gevolgen van het eten van gentechvoedsel.

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

4. De indiener van de zienswijzen geeft aan dat zij het zwijgen van talrijke deskundigen die weten dat het experimenten zijn, waarvan we de uitkomst zelfs niet kunnen vermoeden, nog het ergste vindt. Waarom is Nederland toch zo voor gentech proeven? Andere landen zijn terecht kritisch! Deze *clinical trials* mogen niet doorgaan.

**Reactie:** De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/181231-03) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

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

5. De indiener van de zienswijzen verwijst naar quotes van E. Geijteman en C. Rommens over de toediening van overbodige en schadelijke medische interventies aan patiënten en dat de afwezigheid van onbedoelde effecten nooit kan worden gegarandeerd.

**Reactie:** De mogelijke schadelijke effecten voor mens en milieu zijn uitgebreid beschouwd in de milieurisicobeoordeling, waaruit blijkt dat de toepassing van het ggo niet zal leiden tot een risico voor mens en milieu. De COGEM heeft positief geadviseerd (CGM/181231-03) over de milieurisicobeoordeling en geconcludeerd dat de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

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

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

De indiener van de zienswijzen verwijst naar de meer dan 100 bezwaren en enkele beroepen bij de Raad van State welke te vinden zijn op haar website. Het is onvoldoende duidelijk wat de relevantie van al deze bezwaren en beroepen is voor de onderliggende aanvraag. Derhalve wordt niet op deze bezwaren en beroepen ingegaan.

## **9. OPMERKINGEN VAN ANDERE LIDSTATEN**

Er zijn geen opmerkingen ontvangen.

## **10. CONCLUSIE**

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

Op basis van het voorgaande is de Staatssecretaris van oordeel dat aan de aangevraagde werkzaamheden, als deze onder de voorwaarden zoals aangevraagd worden uitgevoerd, geen mogelijke effecten verbonden zijn die onaanvaardbaar zijn voor mens en milieu. De aanvraag voldoet daarmee aan de wettelijke vereisten. Er zijn op basis van artikel 9.2.2.3, tweede lid van de Wet milieubeheer dan ook geen redenen om de aangevraagde werkzaamheden te weigeren.

Naar aanleiding van deze overwegingen zal de vergunning worden verleend.

## Besluit

- I. Aan het Academisch Ziekenhuis behorende bij de openbare universiteit Rotterdam, wordt vergunning verleend voor doelbewuste introductie voor overige doeleinden als bedoeld in artikel 3.2, eerste lid, van het Besluit ggo.
- II. De vergunning heeft uitsluitend betrekking op de in de aanvraag beschreven werkzaamheden in de gemeente Rotterdam.
- III. De aanvraag met bijbehorende aanvullingen maakt deel uit van deze vergunning.
- IV. Aan de vergunning worden de navolgende voorschriften verbonden.

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

## Voorschriften

### Artikel 1. Definities en begrippen

1. Op deze vergunning zijn de volgende definities van toepassing:
  - a. COGEM: de Commissie genetische modificatie, ingesteld bij artikel 2.26 van de Wet milieubeheer;
  - b. de Staatssecretaris: de Staatssecretaris van Infrastructuur en Waterstaat;
  - c. Het Besluit ggo: het Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013;
  - d. De Regeling ggo: de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013;
  - e. ggo: genetisch gemodificeerd organisme;
  - f. FVIII: factor VIII;
  - g. rAAV: replicatiedeficient genetisch gemodificeerd Adenovirus-geassocieerd virus;
  - h. hFVIII-BDD: humane factor VIII sequentie waarvan het B-domein gedeleteerd is;
  - i. AAV: Adeno-associated Virus;
  - j. HSV: Herpes simplex virus;
  - k. Rep: regulatorisch gen van AAV dat de replicatie reguleert;
  - l. Cap: structureel gen van AAV dat codeert voor het capsid eiwit;
  - m. ITR: inverted terminal repeat;
  - n. enTTR: muizen transthyretin enhancer;
  - o. TTRpro: humane transthyretin promotor;
  - p. polyA: polyadenylatie;
  - q. GMP: Good Manufacturing Practices;
  - r. Ad5: adenovirus 5;
  - s. HPV: humaan papillomavirus;
  - t. rcAAV: replicatiecompetent Adenovirus-geassocieerd virus;
  - u. kb: kilobasen;
  - v. qPCR: kwantitatieve polymerase-kettingreactie.
2. Voor het overige zijn de definities van het Besluit ggo en de Regeling ggo op deze vergunning van toepassing.
3. Bij ieder voorschrift van deze vergunning kunnen, met het oog op de bescherming van de gezondheid van de mens en van het milieu, door de Staatssecretaris nadere eisen worden gesteld. De vergunninghouder dient aan de gestelde nadere eisen te voldoen.

### Artikel 2. Algemene voorschriften

1. De werkzaamheden als bedoeld onder II, mogen uitsluitend doorgang vinden voor zover die zijn opgenomen in een beschrijving van voorgenomen werkzaamheden als bedoeld in artikel 4 en voor zover er minstens 15 dagen zijn verstreken na verzending van die beschrijving conform artikel 4 aan de Staatssecretaris of zodra de ontvangst van de beschrijving van voorgenomen werkzaamheden schriftelijk is bevestigd.

2. De vergunninghouder dient zich tijdens de uitvoering van de werkzaamheden als bedoeld onder II, te verzekeren van de volledige zeggenschap over de werkzaamheden met genetisch gemodificeerde organismen.
3. De medewerkers die worden betrokken bij de werkzaamheden, worden van de inhoud van deze vergunning in kennis gesteld voordat zij met de werkzaamheden aanvangen.

#### **Artikel 3. Bijzondere voorschriften**

1. Patiënten dienen een dubbele barrière anticonceptie methode te gebruiken in de periode na toediening van BAY 2599023/DTX201 totdat één spermamonster negatief is bevonden voor de aanwezigheid van BAY 2599023/DTX201 vector DNA.
2. De behandelde patiënten worden uitgesloten van donatie van bloed, cellen, organen en weefsels.

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

1. De vergunninghouder is verplicht voor de aanvang van de werkzaamheden een beschrijving van de voorgenomen werkzaamheden in overeenstemming met artikel 42 van de Regeling ggo aangetekend te zenden aan de Staatssecretaris.

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

1. Iedere wijziging van gegevens met betrekking tot de vergunningaanvraag (bijvoorbeeld wijziging van contactpersoon of milieuveiligheidsfunctionaris) moeten in het logboek worden opgenomen en onverwijld schriftelijk aan de Staatssecretaris worden gemeld.
2. Gedurende het uitvoeren van de onder II bedoelde werkzaamheden op de locatie moet regelmatig en doelmatig gecontroleerd worden op afwijkingen ten opzichte van de gegevens in de onderliggende aanvraag. Deze afwijkingen dienen te worden genoteerd in het logboek.
3. Afwijkingen, zoals bedoeld in het tweede lid, die van invloed kunnen zijn op de risico's van de werkzaamheden voor mens en milieu, dienen onverwijld telefonisch en schriftelijk aan de Inspectie Leefomgeving en Transport gemeld te worden.
4. Iedere onvoorziene omstandigheid die de werkzaamheden betreft zoals beschreven onder II moet onverwijld aan de Inspectie Leefomgeving en Transport worden gemeld. De gegevens voor het melden staan vermeld op de website van de Inspectie Leefomgeving en Transport en op de website van Bureau ggo.

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1

**Artikel 6. Inwerkingtreding**

1. Deze beschikking treedt in werking overeenkomstig artikel 20.3 van de Wet milieubeheer.

18 januari 2019,  
DE STAATSSECRETARIS VAN INFRASTRUCTUUR EN WATERSTAAT,

namens deze,

de directeur Omgevingsveiligheid en Milieurisico's,



drs. ing. Peter Torbijn

**Directoraat-generaal  
Milieu en Internationaal**  
Directie  
Omgevingsveiligheid en  
Milieurisico's

**Ons kenmerk**  
IM-MV 18-015\_000.bes.1