



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu

*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

# Risicobeoordeling van ggo's onder Ingeperkt Gebruik

Eric van den Akker  
Bureau GGO



## Besluit ggo 2013:

Artikel 2.5:

voor werkzaamheden met ggo's geldt dat er altijd vooraf een analyse van de risico's voor mens of milieu moet worden gemaakt.

## Regeling ggo 2013:

Bijlage 5: Uitvoeren risicobeoordeling

Uitkomst van de risicobeoordeling bepaalt:

- inperkingsniveau
- CFI
- procedure: kennisgeving of vergunningaanvraag



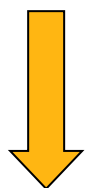
## Stappen in de risicobeoordeling

- Stap 1: Evaluatie van mogelijke schadelijke effecten van het ggo en gevolgen hiervan
- Stap 2: Waarschijnlijkheid optreden schadelijke effecten
- Stap 3: Risicobepaling (1 X 2)
- Stap 4: Risicomanagement
- Stap 5: Bepaling uiteindelijke risico



# Bepaling van risico bij GGOs

• Risico = Mogelijk schadelijk effect x Waarschijnlijkheid



- Gastheer
- Vector
- Donorsequentie
- GGO
- Activiteiten
- Effect op mens en milieu

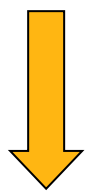


factor 0 - 1  
waarschijnlijkheid is onzeker  
dus nooit 0  
  
factor = 1  
worst case scenario



# Bepaling van risico bij GGOs

• Risico = Mogelijk schadelijk effect x Waarschijnlijkheid



Voorbeeld:  
Mogelijk verhoogde pathogeniteit voor de mens bij klonering virulentiefactor uit Mycobacterium tuberculosis (PG3) in Mycobacterium avium (PG2) m.b.v. integratievector pMV361



factor 0 - 1

waarschijnlijkheid is onzeker dus nooit 0

factor = 1  
worst case scenario



## Stappen in de risicobeoordeling

Risico = Mogelijk schadelijk effect x Waarschijnlijkheid

- Stap 1: Evaluatie van mogelijke schadelijke effecten en gevolgen hiervan
- Stap 2: Waarschijnlijkheid optreden schadelijke effecten
- Stap 3: Risicobepaling (1 X 2)
- Stap 4: Risicomanagement:  
niveau I, II, III, IV  
CFI  
plus benodigde aanvullende voorschriften
- Stap 5: Bepaling uiteindelijke risico



- Maatregelen toepassen om het risico terug te brengen tot een acceptabel niveau:  
**de fysieke inperking**
- Bijlage 9:           Standaard werk- en inrichtingsvoorschriften
  - ML-I                    verspreiding **beperken**           **VMT-lab**
  - ML-II                   verspreiding **tegengaan**       **beperkte toegang, VK-2**
  - ML-III                 verspreiding **voorkomen**       **sluis, onderdruk, HEPA filter, VK-2**
  - ML-IV                 verspreiding **uitsluiten**       **VK-3, volledig beschermende kleding**

Additionele voorschriften voor niveau I en II:  
specifieke organismen  
speciale activiteiten  
inschalen via deel II van bijlage 5

**Voorbeeld: bij werkzaamheden met Listeria op ML-II, uitsluiting zwangeren**



## Stappen in de risicobeoordeling

Risico = Mogelijk schadelijk effect      x      Waarschijnlijkheid

- Stap 1: Evaluatie van mogelijke schadelijke effecten en gevolgen hiervan
- Stap 2: Waarschijnlijkheid optreden schadelijke effecten
- Stap 3: Risicobepaling (1 X 2)
- Stap 4: Risicomanagement
- Stap 5: Bepaling uiteindelijke risico  
**Moet voor ggo's altijd verwaarloosbaar klein zijn**





# Risicobeoordeling

## Bijlage 8

- Uitgebreide beschrijving alle stappen in de risicobeoordeling voor IG

## Bijlage 5

- Generieke, gestandaardiseerde benadering voor de risicobeoordeling waarin stappen 1 t/m 4 zijn vastgelegd
- “Spoorboekje”
- Inschalen
  - Bijlage 5, deel I: inperkingsniveau (I, II, III, IV)  
CFI (ML-II, D-I, PCM-III, MI-II)
  - Bijlage 5, deel II: additionele aanvullende voorschriften I en II



# **Inschalen = risicobeoordeling**

**Inschaling vindt plaats op basis van:**

**De samenstelling van het ggo:**

- Eigenschappen gastheer
- Eigenschappen vector
- Eigenschappen ingebrachte donorsequenties

**In combinatie met de handelingen met het ggo:**

- Kleinschalige of grootschalige handelingen
- Handelingen met dieren of planten in combinatie met ggo's
- Bepaalde risicovolle handelingen (aerosolvorming, injectie, etc)



# Standaard inschalingsartikelen bijlage 5

*Deel I Standaard inschalingsartikelen voor activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen, onder andere:*

- 5.2 Activiteiten met gg micro-organisme vermeld op lijst A1
- 5.3 Activiteiten met gg micro-organisme van klasse 4, 3, 2 of 1
- 5.4 Activiteiten met gg animale cellen dan wel plantencellen.
- 5.5 Handelingen met planten.
- 5.6 Handelingen met dieren.
- 5.7 Handelingen in procesinstallaties.

*Deel II Bepaling van eventuele aanvullende voorschriften voor activiteiten met genetisch gemodificeerde organismen op inperkingsniveau I en II.*





# Eigenschappen gastheren

- Bijlage 2, Lijst A1:  
apathogene bacteriën en schimmels
- Bijlage 4.1:  
pathogene virussen (dier, humaan of plant)
- Bijlage 4.2 t/m 4.4:  
pathogene bacteriën, schimmels  
en parasieten
- Bijlage 7: planten
- Cellijnen: let op mogelijke  
aanwezigheid endogeen virus  
(of virus sequenties)

- Enterococcus mundtii*
- Enterococcus sulfureus*
- Erwinia carnegieana*
- Erythrobacter litoralis*
- Erythrobacter longus*
- Erythromicrobium ramosum*
- Escherichia blattae*
- Escherichia coli B*
- Escherichia coli C*
- Escherichia coli K12*
- Escherichia coli W*
- Eubacterium acidaminophilum*
- Eubacterium angustum*

<i>Mycobacterium marinum</i>	2
<i>Mycobacterium microti</i>	3
<i>Mycobacterium porcinum</i>	2
<i>Mycobacterium scrofulaceum</i>	2
<i>Mycobacterium senegalense</i>	2
<i>Mycobacterium shimoidei</i>	2
<i>Mycobacterium simiae</i>	2
<i>Mycobacterium szulgai</i>	2
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	3
<i>Mycobacterium vaccae</i>	2
<i>Mycobacterium xenopi</i>	2





## Eigenschappen donorsequentie: karakterisatie

Ongekarakteriseerde sequentie: inschalen bijlage 5 a t/m e

Bepaal herkomst sequentie = **donororganisme**

Donor bevat **geen schadelijk genproduct**: inschalen volgens e  
micro-organismen van lijst A1, land- of tuinbouwgewas

**geen verhoogde inschaling**

klonering sequenties uit appel in *E.coli* K12, 5.2.e=ML-I

Donor bevat **schadelijk genproduct**: inschalen volgens a  
*Mycobacterium tuberculosis*, klasse 3

**verhoogde inschaling**

klonering sequenties uit *M. tuberculosis* in *E.coli* K12, 5.2.a=ML-II



## Eigenschappen donorsequentie: karakterisatie

Gekarakteriseerde sequentie: inschalen volgens f t/m i

Functie van sequentie is bekend

Sequentie is **niet schadelijk**: inschalen volgens i  
huishoudgen

geen verhoogde inschaling

klonering huishoudgen uit appel in *E.coli* K12, 5.2.i=ML-I

Sequentie is **schadelijk**: inschalen volgens f  
toxine uit bij/slang

EN werkzaam in gastheer

verhoogde inschaling

klonering toxine in *E. coli* K12, 5.2.f=ML-II





## Eigenschappen donorsequenties: schadelijkheid

Voorbeelden van schadelijke genproducten:

- Toxines
  - Allergenen
  - Prionen, aggregerende eiwitten betrokken bij Alzheimer
  - Bepaalde antibioticumresistentie genen (VancR, ESBLs)
  - Transposons
  - Oncogenen
  - Immuunmodulerende sequenties
- 
- Context (bv eigenschappen gastheer) wordt meegewogen bij bepaling schadelijkheid
  - Toepassing schadelijke genproducten kan zorgen voor een hogere inschaling: ML-II (via 5.2.f) i.p.v. ML-I (via 5.2.i)

Voorbeeld: oncogen niet schadelijk bij transfectie cellen mbv plasmide, wel schadelijk bij insertie in HPV



## Risicobeoordeling uitvoeren

Gastheer organisme	pathogeniteitsklasse mo verspreidingswijze plant	bijlage 2 of 4 bijlage 7
Gastheer cellijn	eigenschappen vaststellen	internet, OL, VM
Vector plasmide	eigenschappen vaststellen	A2, internet, OL, VM
Vector virus	pathogeniteitsklasse virus	bijlage 4
Donorsequentie	gekaracteriseerd / ongekarakteriseerd schadelijk / onschadelijk context: werkzaam in gastheer	
Ggo	inschalen omlaagschaling	bijlage 5 onderbouwen
Activiteiten	standaard activiteiten speciale activiteiten ontheffing	bijlage 9 RB onderbouwen RB onderbouwen



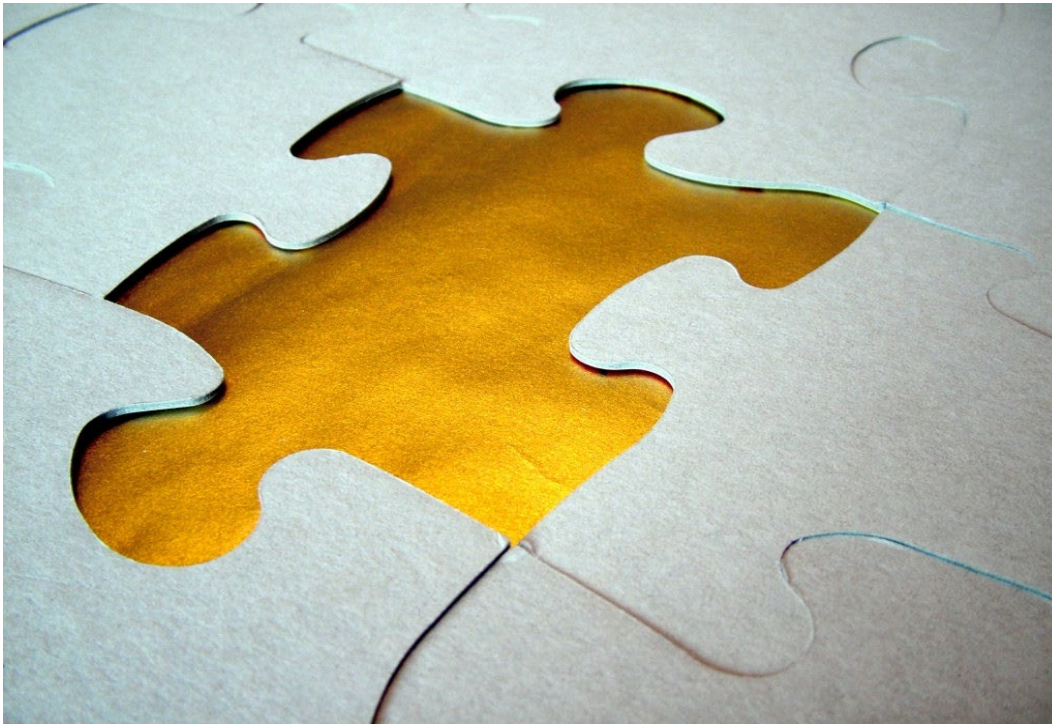
## Meest toegepaste activiteiten met inschalingsartikelen

### *Uitgaande van gekarakteriseerde onschadelijke sequenties*

- Klonering plasmide vector in E. coli 5.2.i (ML-I)
- Transfectie van plasmide vector in animale cellen 5.4.1.i (ML-I)
- Productie / infectie met AAV of lentivirale vectoren 5.4.2.i (ML-I) *of 5.4.2.h bij aanwezigheid virale promoter PG2 virus (bv CMV promoter) in de vector (ML-I)*
- Productie / infectie met retrovirale vectoren 5.4.3.i (ML-II) *of 5.4.3.h bij aanwezigheid virale promoter PG2 virus (bv CMV promoter) in de vector (ML-II)*



## Vragen?



Bureau GGO:

E-mail: [BGGO@RIVM.NL](mailto:BGGO@RIVM.NL)

Telefoon: 088 689 7099