



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



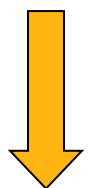
Stappen in de risicobeoordeling

- 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

• $\text{Risico} = \text{Mogelijk schadelijk effect} \times \text{Waarschijnlijkheid}$



Gastheer
Vector
Donorsequentie
GGO
Activiteiten
Effect op mens en milieu



factor 0 - 1
waarschijnlijkheid is onzeker
dus nooit 0

factor = 1
worst case scenario

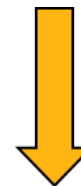


Bepaling van risico bij GGOs

- $\text{Risico} = \text{Mogelijk schadelijk effect} \times \text{Waarschijnlijkheid}$



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 fysische 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.



Pathogeniteitsklassen micro-organismen

- Klasse 1: apathogeen niveau I, ML-I
 (*E. coli* K12)
- Klasse 2: geen ernstige ziekte, niveau II, ML-II
 verspreiding **onwaarschijnlijk**,
 profylaxe, behandeling beschikbaar
 (*E. coli* wildtype, Adenovirus)
- Klasse 3: ernstige ziekte niveau III, ML-III
 verspreiding **waarschijnlijk**
 profylaxe, behandeling beschikbaar
 (*Mycobacterium tuberculosis*, HIV)
- Klasse 4: ernstige ziekte niveau IV, ML-IV
 verspreiding **waarschijnlijk**
 profylaxe, behandeling niet beschikbaar
 (Lassa virus)

Inperkingsniveau wordt primair bepaald door classificatie van het micro-organisme



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)

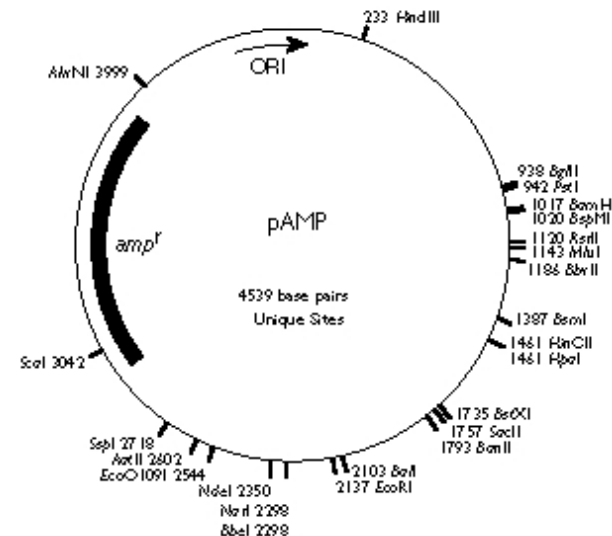
Enterococcus mundtii
Enterococcus sulfureus
Erwinia carnegieana
Erythrobacter litoralis
Erythrobacter longus
Erythromicrobium ramosum
Escherichia blattae
Escherichia coli B
Escherichia coli C
Escherichia coli K12
Escherichia coli W
Eubacterium acidaminophilum
Eubacterium angustum

<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 vectoren

- Grootte en samenstellende delen dienen bekend te zijn
- Aard van de vector:
 - virale vector
 - zelfoverdraagbare vector
- Schadelijke onderdelen: transposons, antibioticumresistentie genen *beschouwen onder donorsequenties*
- Reguliere abr genen (AmpR, HygR, NeoR) worden voor kleinschalige handelingen in apathogenen (PG1) niet als schadelijk beschouwd
- Virale sequenties (beoordelen in combinatie met gastheer), zoals SV40 ori, EBV ori





Eigenschappen donorsequentie: karakterisatie

Ongekaracteriseerde 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 RB onderbouwen
Voorschriften	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

Telefoon: 088 689 7099