

Aan de staatssecretaris van Openbaar Vervoer en Milieu
Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat
De heer A.A. Aartsen
Postbus 20901
2500 EX Den Haag

DATUM 27 november 2025
KENMERK CGM/251127-01
ONDERWERP Actualisatie randvoorwaarden voor klinische studies met getransduceerde cellen

Geachte heer Aartsen,

De COGEM heeft enkele jaren geleden een generieke milieurisicobeoordeling uitgebracht voor klinische studies die gebruik maken van cellen die buiten het lichaam genetisch gemodificeerd zijn. Hierin zijn randvoorwaarden opgesteld om de vergunningverleningsprocedure voor dit type studies te vereenvoudigen. De randvoorwaarden zijn in de loop der tijd aangescherpt of aangepast. Dit advies biedt een overzicht met de geactualiseerde randvoorwaarden.

Samenvatting:

De COGEM heeft in 2019 en 2020 generieke milieurisicobeoordelingen uitgevoerd voor klinische studies met cellen die buiten het lichaam (ex vivo) zijn aangepast met retro- en lentivirale vectoren. Daarbij zijn randvoorwaarden opgesteld waaraan een klinische studie moet voldoen om op voorhand te kunnen inschatten dat de milieurisico's verwaarloosbaar klein zijn. Deze generieke milieurisicobeoordelingen hebben tevens bijgedragen aan het opstellen van 'vergunningen onder vaste voorwaarden' (VoV's) in Nederland. Hiermee kunnen dergelijke studies sneller en eenvoudiger afgehandeld worden.

Na de eerste generieke milieurisicobeoordelingen zijn enkele aanvullende adviezen uitgebracht. Hierbij zijn enkele randvoorwaarden aangescherpt, of door voortschrijdend inzicht gewijzigd.

Dit advies betreft een update van de eerdere generieke milieurisicobeoordelingen. De actuele randvoorwaarden voor klinische studies waarbij gebruik gemaakt wordt van ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen worden hierin samengevat en toegelicht. Wanneer aan deze randvoorwaarden voldaan wordt, acht de COGEM de risico's voor mens en milieu bij dergelijke klinische studies verwaarloosbaar klein. De COGEM adviseert om deze geactualiseerde randvoorwaarden in de VoV's te verwerken.



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

Hoogachtend,

Prof. dr. ing. Sybe Schaap
Voorzitter COGEM

c.c.

- Drs. Y. de Keulenaar, Hoofd Bureau ggo
- Ministerie van IenW, Directie Omgevingsveiligheid en milieurisico's, DG Milieu en Internationaal
- Dr. ir. M.M.C. Gielkens, Loket Gentherapie

Advies Update randvoorwaarden bij generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies en marktaanvragen met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen

COGEM-advies CGM/251127-01

1. Inleiding

De COGEM heeft in 2019 en 2020 generieke milieurisicobeoordelingen uitgebracht over klinische studies met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen in afwezigheid van vrije vectordeeltjes,¹ en over ex vivo lentiviraal getransduceerde cellen in aanwezigheid van vrije lentivirale vectordeeltjes in het medisch product.² Bij deze milieurisicobeoordelingen zijn verscheidene randvoorwaarden genoemd waaraan dergelijke klinische studies moeten voldoen om tot een verwaarloosbaar klein risico te komen. Door voortschrijdend inzicht zijn later ook enkele aanscherpingen en wijzigingen van de randvoorwaarden geadviseerd.^{3,4,5}

Het onderhavige advies betreft een update van de eerdere generieke milieurisicobeoordelingen en biedt een overzicht van de actuele randvoorwaarden die door de COGEM geadviseerd worden met betrekking tot klinische studies waarbij gebruik gemaakt wordt van ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen.

2. De generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met ex vivo getransduceerde cellen

De COGEM heeft regelmatig geadviseerd over klinische studies waarbij patiënteigen of donorcellen ex vivo getransduceerd worden met behulp van retro- of lentivirale vectoren. Transductie van deze cellen leidt tot de integratie en expressie van een transgen in het genoom. Na de transductie worden de genetisch gemodificeerde (gg-)cellen via een infuus teruggebracht in de patiënt.

De generieke milieurisicobeoordeling van dergelijke klinische studies beperkt zich tot het gebruik van retrovirale vectoren gebaseerd op het Moloney murine leukemia virus (MoMuLV), of zelf-inactiverende (SIN) vectoren afgeleid van *Human immunodeficiency virus 1* (HIV-1), welke zijn geproduceerd met behulp van een 3^e-generatie productiesysteem. Deze vectoren worden het meest gebruikt bij klinische studies met ex vivo getransduceerde cellen en er is veel kennis over de bioveiligheid van deze vectoren opgedaan en gepubliceerd in de wetenschappelijke literatuur.

Voor de milieurisicobeoordeling van klinische studies met dergelijke vectoren zijn de volgende aspecten van belang: (i) de mogelijke vorming van replicatiecompetent virus tijdens de productie van de virale vector, (ii) de aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het medisch product, en (iii) mogelijke recombinitie of complementatie van de vector in het medisch product.

2.1 Mogelijke vorming van replicatiecompetent virus

Een risico bij de productie van virale vectordeeltjes is het ontstaan van replicatiecompetent virus (RCV). RCV zou kunnen ontstaan door recombinitie tussen de verschillende plasmiden benodigd voor de productie van de virale vector, of – in het geval van retrovirale vectoren – met endogene retrovirussequenties die in het genoom van de gebruikte cellijn aanwezig zijn. Met betrekking tot

retrovirale vectoren heeft de COGEM eerder geoordeeld dat de kans op het ontstaan van replicatiecompetent retrovirus (RCR) bij de productie niet geheel uit te sluiten is.¹ Zij acht het daarom noodzakelijk dat met een gevalideerde test uitgesloten wordt dat er RCR aanwezig is in de te gebruiken vectorbatch, de 'end of production' (EOP) cellen, of het uiteindelijke medisch product (de getransduceerde cellen).

Bij gebruik van lentivirale SIN-vectoren geproduceerd met een 3^e-generatie productiesysteem zijn in de wetenschappelijke literatuur nooit meldingen geweest van het ontstaan van replicatiecompetent lentivirus (RCL). Tijdens de productie van de 3^e-generatie lentivirale SIN-vectoren moeten minimaal drie verschillende recombinaties plaatsvinden en dient de deletie van de promotor-sequentie in de LTR van het SIN-construct gecompenseerd te worden, alvorens RCL zou kunnen ontstaan. De COGEM heeft derhalve eerder geoordeeld dat vorming van RCL tijdens de productie van 3^e-generatie SIN-lentivirale vectoren niet mogelijk is, en zij acht het bij productie hiervan niet nodig om te testen op aanwezigheid van RCL.

2.2 Aanwezigheid vrije vectordeeltjes

Na transductie van de cellen kunnen vrije infectieuze vectordeeltjes in het te testen medisch product achterblijven. Deze vrije vectordeeltjes worden als een risicofactor gezien, omdat verspreiding naar derden (omstanders, zoals familie) tot onbedoelde transductie zou kunnen leiden. Hierdoor zou het transgen ongewenst tot expressie kunnen komen in cellen van de ontvanger. Ook kan niet uitgesloten worden dat gezonde cellen ontregeld raken door integratie van het vectorgenoom, wat in het ernstigste geval tot kanker zou kunnen leiden. De hoeveelheid retro- of lentivirale vectordeeltjes die bij onbedoelde blootstelling overgedragen worden, speelt een belangrijke rol bij de milieurisico-beoordeling. Het aantal vrije vectordeeltjes kan experimenteel bepaald worden, maar indien dit niet mogelijk is, kan de 'COGEM-formule' gebruikt worden.^{6,7,8} Recent heeft de COGEM een advies uitgebracht waarin een update en nadere uitleg over de COGEM-formule wordt gegeven.⁸

Als onderdeel van de randvoorwaarden voor klinische studies met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen heeft de COGEM een grenswaarde aan vectordeeltjes geadviseerd. Indien de grenswaarde overschreden wordt, dienen enkele generieke beheersmaatregelen gehanteerd te worden om de kans op verspreiding van lenti- en retrovirale vectordeeltjes tot een minimum te beperken (zie paragraaf 4). Deze grenswaarde is recentelijk door de COGEM bijgesteld op 500 vrije vectordeeltjes (gelijk aan een reductieratio van 0,002), en geldt voor zowel retro- als lentivirale vectordeeltjes.⁹

2.3 Recombinatie of complementatie van de vector

Eerder heeft de COGEM als randvoorwaarde gesteld dat 'het gebruikte transgen niet codeert voor sequenties die in staat zijn de replicatie-deficiënte retro- of lentivirale vector te complementeren, of voor schadelijke genproducten of (proto)oncogenen'.³ In een later advies heeft de COGEM deze randvoorwaarde verder gespecificeerd en geconcludeerd dat virale promotorsequenties, niet-virale intronen, 'internal ribosome entry sites' (IRES) en 'ribosomale skip sequenties' niet in staat zijn het replicatie-deficiënte karakter van deze vectoren te complementeren, mits hiervoor geen lenti- of retrovirale sequenties worden gebruikt.⁴ Voor enkele virale promotorsequenties is later geconcludeerd dat deze niet zullen leiden tot complementatie van een MoMuLV-retrovirale vector of een SIN-lentivirale vector, en dat deze derhalve ook onder de gestelde randvoorwaarde van de COGEM vallen.⁵

In theorie zou recombinatie met of complementatie van de virale vector ook kunnen plaatsvinden in de getransduceerde cellen wanneer een verwant lenti- of retrovirus in dezelfde cel aanwezig is. Met betrekking tot retrovirale vectoren heeft de COGEM eerder gesteld dat de kans op recombinatie of complementatie in patiënten met acute of chronische infectie met HIV en/of HTLV verwaarloosbaar klein is, omdat MoMuLV vanwege beperkte sequentiehomologie zeer slecht kan recombineren met, of gecomplementeerd kan worden door humane lentivirussen of endogene retrovirussen. De kans op recombinatie met, of complementatie van, de retrovirale vector met gammaretrovirussen is eveneens verwaarloosbaar klein aangezien er geen gevallen bekend zijn van infecties van MoMuLV en andere gammaretrovirussen in mensen. In het uitzonderlijke geval dat er complementatie van de retrovirale vector plaatsvindt, zal dit alsnog een verwaarloosbaar klein milieurisico geven, aangezien de virale vector replicatiedeficiënt is en zich niet verder kan verspreiden. De COGEM heeft daarom geadviseerd dat HIV- of HTLV-positieve patiënten niet uitgesloten hoeven te worden van studies waarin retrovirale vectoren gebruikt worden.¹

Oorspronkelijk was als een van de randvoorwaarden opgenomen dat bij het gebruik van een lentivirale vector HIV-geïnfecteerde personen uitgesloten moeten worden van deelname aan de klinische studie.¹ Door voortschrijdend inzicht is deze randvoorwaarde aangepast.³

Voor studies waarin SIN-lentivirale vectoren gebruikt worden, kan de aanwezigheid van de SIN-deletie in de vectoren de kans op mobilisatie door een mogelijke HIV infectie verkleinen, maar niet geheel voorkomen.^{10,11} De kans op mobilisatie wordt echter verder gereduceerd door antiretrovirale therapie (ART, geïndiceerd bij HIV-infectie). Deze medicijnen verlagen de 'viral load', waarmee ook de kans op transductie door een eventueel gemobiliseerde vector afneemt. Eerder heeft de COGEM op theoretische gronden geconcludeerd dat het onwaarschijnlijk is dat recombinatie tussen HIV en SIN-lentivirale vectoren resulteert in een recombinant virus dat beter repliceert dan het wildtype virus. Recent heeft de COGEM ook experimenteel onderzoek laten uitvoeren naar mogelijke recombinatie tussen HIV en lentivirale vectoren, waaruit is gebleken dat de SIN-deletie recombinatie tussen HIV en SIN-lentivirale vectoren voorkomt.^a De COGEM blijft daarom bij haar eerdere oordeel dat HIV-geïnfecteerde personen bij klinische studies met SIN-lentivirale vectoren geïncubeerd mogen worden.³

3. Advies met betrekking tot de vereenvoudigde vergunningprocedure

In 2019 hebben de nationale bevoegde autoriteiten van de EU-lidstaten in samenwerking met de 'Commission services' een generiek 'Good practice document' opgesteld voor gentherapiestudies met ex vivo getransduceerde cellen.^{12,13} Op basis van het 'Good practice document' en de generieke milieurisicobeoordelingen van de COGEM^{1,2,3} zijn in Nederland 'vergunningen onder vaste voorwaarden' (VoV's) voor dergelijke studies opgesteld, waarmee vergunningaanvragen via een vereenvoudigde en verkorte procedure afgehandeld kunnen worden.^{14,15} In deze documenten zijn verschillende vereisten opgesteld waaraan de vectoren en gg-cellen moeten voldoen.

Zoals eerder in dit advies is aangegeven, zijn de randvoorwaarden in de COGEM-adviezen waarop deze VoV's zijn gebaseerd door voortschrijdend inzicht in sommige gevallen bijgesteld. In het onderhavige advies is uiteengezet welke veranderingen hebben plaatsgevonden en wordt een nieuw overzicht gegeven van de randvoorwaarden die de COGEM adviseert voor klinische studies met ex vivo

a. Het onderzoeksrapport van deze studie (Das AT, Klaver B, Berkhout B. *Recombination between HIV and Lentiviral Vectors. An experimental study on recombination between HIV and HIV-derived lentiviral vectors*) zal binnenkort worden gepubliceerd.

getransduceerde cellen. De COGEM adviseert om deze geactualiseerde randvoorwaarden in de VoV's te verwerken.

4. Overzicht randvoorwaarden ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen

De COGEM adviseert de volgende randvoorwaarden voor de generieke milieurisicobeoordeling bij klinische studies met ex vivo **retroviraal** of **lentiviraal** getransduceerde cellen:

- Er wordt gebruik gemaakt van retrovirale vectoren gebaseerd op het Moloney murine leukemia virus (MoMuLV), of zelf-inactiverende (SIN) vectoren afgeleid van Human immunodeficiency virus 1 (HIV-1), welke zijn geproduceerd met behulp van een 3^e-generatie productiesysteem. Deze vectoren kunnen gepseudotypeerd zijn met VSV-G of andere virale glycoproteïnen.¹⁶
- Het gebruikte transgen codeert niet voor sequenties die in staat zijn de replicatiedeficiënte retro- of lentivirale vector te complementeren, of voor schadelijke genproducten of (proto)oncogenen.
 - Het gebruik van virale promotorsequenties, niet-virale intronen, 'internal ribosome entry sites' (IRES) en 'ribosomale skip sequenties' in de transfervector is toegestaan, mits hiervoor geen lenti- of retrovirale sequenties worden gebruikt.⁴
 - Voor enkele specifieke lenti- of retrovirale promotorsequenties is eerder geadviseerd dat zij niet tot complementatie zullen leiden (zie [appendix I](#)).⁵ Gebruik van deze specifieke sequenties in de transfervector is toegestaan.
- Voor de moleculaire karakterisering geldt dat minimaal de vectorkaartjes en beschrijvingen van de productieplasmiden zijn overlegd door de aanvrager, en dat de aanvrager heeft bevestigd dat deze plasmiden gesequenced zijn en dat de retro- of lentivirale sequenties in de plasmiden identiek zijn aan de beoogde sequenties.
- De generieke milieurisicobeoordeling is van toepassing op zowel autologe als allogene ex vivo getransduceerde cellen,^b inclusief macrofagen.¹⁶
- Er zijn maximaal 500 vrije infectieuze vectordeeltjes in het terug te plaatsen medisch product aanwezig, overeenkomstig met een reductieratio van minimaal 0,002 bij gebruik van de COGEM-formule.⁹ Deze grenswaarde wordt geadviseerd onafhankelijk van de leeftijd en/of het bloedvolume van de patiënt.¹⁶

Indien de grenswaarde van 500 vrije vectordeeltjes overschreden wordt, of een reductieratio lager dan 0,002 bereikt wordt⁹, dienen bij klinische studies met ex vivo **retroviraal** of **lentiviraal** getransduceerde cellen de volgende generieke maatregelen in acht genomen te worden:

- Na toediening van het medisch product wordt de infuusinsteekplaats met een adequate methode gedesinfecteerd om resterende cellen en vectordeeltjes te inactiveren;
- Na toediening van het medisch product (ex vivo getransduceerde gg-cellen) blijft de patiënt minimaal 16 uur in het ziekenhuis opgenomen, zodat de geëigende ziekenhuis hygiëne-maatregelen in acht genomen kunnen worden. Patiënt, medisch personeel en bezoekers

^b In een advies over allogene cellen die dusdanig gemodificeerd zijn dat de kans op afstoting verminderd is, heeft de COGEM gesignaleerd dat in deze gevallen bij directe overdracht van de cellen een potentieel risico voor derden bestaat en dat de instanties die betrokken zijn bij donatie van lichaamsmateriaal zich bewust moeten zijn van de mogelijke overdrachtsrisico's en geïnformeerd moeten worden over de behandeling die de patiënten hebben ondergaan, zodat zij dit in hun overwegingen mee kunnen nemen. COGEM (2020), CGM/201029-01.

worden voorgelicht hoe gedurende deze periode met wondverzorging en besmet materiaal moet worden omgegaan. Indien de aanvrager aannemelijk maakt dat de vectordeeltjes eerder dan 16 uur voldoende uit het lichaam van de patiënt geklaard zijn, kan de periode navenant worden bekort.

Specifiek voor klinische studies waarbij gebruik wordt gemaakt van cellen getransduceerd met behulp van **retrovirale vectoren** hanteert de COGEM de volgende aanvullende randvoorwaarden:

- De vectorbatch, de 'end of production' cellen, of het uiteindelijke medisch product (de getransduceerde cellen) worden door middel van een gevalideerde test gecontroleerd op de afwezigheid van replicatiecompetent retrovirus (RCR).

Indien aan bovengenoemde randvoorwaarden wordt voldaan acht de COGEM de risico's voor mens en milieu bij klinische studies met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen verwaarloosbaar klein.

5. Geactualiseerde randvoorwaarden gelden ook voor markttoelating

Zoals eerder door de COGEM geadviseerd, is de generieke milieurisicobeoordeling ook van toepassing op marktaanvragen van het betreffende ggo-product.³ Dit houdt in dat de COGEM bij adviesvragen over marktaanvragen voor gg-medicijnen of gg-toepassingen die blijken te voldoen aan de geactualiseerde randvoorwaarden van de generieke milieurisicobeoordeling, een verkort advies uitbrengt waarin doorverwezen wordt naar de generieke adviezen. Hiermee hoopt de COGEM een bijdrage te leveren aan het versnellen van vergunningprocedures door onnodige administratieve belasting te verminderen.

Appendix I – lijst met goedgekeurde lenti- en retrovirale promotorsequenties

Lenti- of retrovirale promotorsequenties in gammaretrovirale vectoren

De COGEM is van oordeel dat het milieurisico van het uitwisselen van gammaretrovirale LTR- en leadersequenties in retrovirale vectoren verwaarloosbaar klein is. Hierbij worden namelijk geen retrovirale elementen aan het systeem toegevoegd die recombinatie en complementatie mogelijk maken, waardoor de kans op het ontstaan van replicatiecompetent retrovirus (RCR), niet toe zal nemen.

Lenti- of retrovirale promotorsequenties in lentivirale vectoren (3^e generatie)

De COGEM is van oordeel dat het milieurisico van het gebruik van de volgende lenti- of gammaretrovirale promotorelementen voor het tot expressie brengen van het transgen in SIN-lentivirale vectoren geproduceerd met een 3^e generatie productiesysteem, verwaarloosbaar klein zijn:

- Murine stem cell virus (MSCV) promotor.
- 'Myeloproliferative sarcoma virus (MPSV) enhancer, negative control region (NCR) deleted, dl587rev primer-binding site (PBS) substituted' (MND) promotor afgeleid van MoMLV, ook wel MNDU3 genoemd. Dit promotorelement bevat de U3 regio van de MoMLV LTR-sequentie met de MPSV enhancer, waarin de NCR gedeleteerd is en waarbij de MoMLV PBS vervangen is door de PBS van de MoMLV dl587rev stam.
- Chimere promotor bestaande uit een humane promotor en een partiële LTR-sequentie van HTLV waaruit het U3-domein en een deel van het U5-domein zijn verwijderd.

Referenties

1. COGEM (2019). Generieke milieuriscobeoordeling van klinische studies met ex vivo retro- en lentiviraal getransduceerde cellen. COGEM advies CGM/190729-01.
2. COGEM (2020). Generiek advies over de milieuriscobeoordeling van klinische studies met ex vivo lentiviraal getransduceerde cellen: aanwezigheid van vrije vectordeeltjes in het medisch product. COGEM advies CGM/200507-01.
3. COGEM (2020). Advies betreffende procedures van markttoelatingen van medische ggo-producten die onder de generieke milieuriscobeoordeling van klinische studies vallen. COGEM-advies CGM/201214-02
4. COGEM (2024). Generiek advies over elementen in lenti- en retrovirale vectoren. COGEM-advies CGM/240612-01
5. COGEM (2025). Advies virale promotorsequenties in lenti- en retrovirale vectoren. COGEM-advies CGM/250122-01
6. COGEM (2009). Inschaling van laboratoriumwerkzaamheden met lentivirale vectoren. COGEM-advies CGM/090331-03
7. Dautzenberg IJC & Hoebe RC (2020). The COGEM formula revisited. Experimental validation of the reduction ratio formula for free lentiviral particles. COGEM rapport CGM 2020-01
8. COGEM (2025). Advies Toelichting op de COGEM-formule voor het berekenen van vrije lenti- of gammaretrovirale vectordeeltjes na ex vivo transductie. COGEM-advies CGM/250819-01
9. COGEM (2025). Advies Herooverweging grenswaarde aanwezige vrije lenti- en retrovirale vectordeeltjes bij klinische studies met ex vivo getransduceerde cellen. COGEM-advies CGM/250520-01
10. Grunwald TFS et al. (2004). Reducing mobilization of simian immunodeficiency virus based vectors by primer complementation. J. Gene Med. 6:147-154.
11. Hanawa H et al. (2005). Mobilization and mechanism of transcription of integrated self-inactivating lentiviral vectors. J. Virol. 79: 8410-8421
12. European Commission. Advanced therapies. https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/advanced-therapies_en (bezocht: 24 november 2025)
13. Good Practice on the assessment of GMO-related aspects in the context of clinical trials with human cells genetically modified. https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/advtherapies/docs/gmcells_gp_en.pdf (bezocht: 24 november 2025)
14. Loket Gentherapie (RIVM). Aanvraagformulier Retro/lentivirale vectoren zonder deeltjes - VoV. <https://www.loketgentherapie.nl/aanvraagformulier-retrovirale-vectoren-vov> (bezocht: 24 november 2025)
15. Loket Gentherapie (RIVM). Aanvraagformulier Lentivirale vectoren en SIN virale partikels - VoV https://www.loketgentherapie.nl/aanvraagformulier-cellen_LLV-SIN_met_deeltjes-vov (bezocht: 24 november 2025)
16. Besproken in de vergadering van de COGEM subcommissie Medisch Veterinair van 11 september 2025