

Aan de staatssecretaris van  
Infrastructuur en Waterstaat  
drs. V.L.W.A. Heijnen  
Postbus 20901  
2500 EX Den Haag

**DATUM** 30 augustus 2022  
**KENMERK** CGM/220830-01  
**ONDERWERP** Advies over maatregelen bij klinische studies AAV met 'targeted nucleases'

Geachte mevrouw Heijnen,

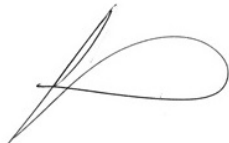
Naar aanleiding van een adviesvraag betreffende dossier IM-MV 21-011 met de titel “AAV clinical vectors with a target nuclease as insert, used in vivo, to treat and/or prevent disease” ingediend door het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam, deelt de COGEM u het volgende mee.

**Samenvatting:**

De COGEM is gevraagd te adviseren over een brede vergunningaanvraag voor klinische studies waarbij AAV-vectoren in combinatie met zogenaamde ‘targeted nucleases’, waaronder CRISPR-Cas9, middels verschillende routes worden toegediend aan proefpersonen. De COGEM heeft in een eerder generiek advies over het gebruik van deze vectoren maatregelen geadviseerd om verspreiding naar derden te voorkomen. De maatregelen in de aanvraag wijken op een paar punten af van dit generieke advies. Zo is de duur van de voorgestelde veiligheidsmaatregelen korter. Aangezien de aanvrager hiervoor geen onderbouwing biedt, ziet de COGEM geen reden om af te wijken van de eerder door haar geadviseerde termijn van twee weken. In de ontwerpbeschikking zijn bij toedieningen in het oog aanvullende maatregelen voorgesteld. De COGEM stemt in met deze aanvullende maatregelen, gezien uitscheiding via neusvocht en traanvocht hier niet uitgesloten kan worden. In de aanvraag zijn aparte maatregelen voorgesteld voor de toediening van AAV-vectoren waarbij CRISPR-Cas9 alleen geactiveerd wordt in oog-specifieke cellen, waaronder het dragen van een ooglapje. De COGEM is van oordeel dat de voorgestelde maatregelen dienen te worden aangevuld met de maatregelen zoals benoemd voor generieke toepassing in het oog, voor de periode van één week en dat het ooglapje ten minste 24 uur gedragen wordt, conform haar eerdere advies over een dergelijke toepassing. Samengevat, is de COGEM het eens met de maatregelen zoals opgenomen in de ontwerpbeschikking met enkele aanvullingen. Met de toepassing van de geadviseerde maatregelen, is de COGEM van oordeel dat de risico’s voor mens en milieu bij deze klinische studies met AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ verwaarloosbaar klein zijn.

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
- Dr. K.R.J. Vanmolkot, Centrale Commissie Mensgebonden Onderzoek
- Drs. K.E. Kok, Ministerie van VWS

***Met het oog op eventuele belangenverstrengeling is het COGEM lid dr. A.T. Das niet betrokken geweest bij de besluitvorming over dit advies.***

# Advies over maatregelen bij klinische studies met AAV-vectoren en ‘targeted nucleases’ zoals CRISPR-Cas9

## COGEM advies CGM/220830-01

### 1. Inleiding

De COGEM is gevraagd te adviseren over klinische studies waarbij AAV-vectoren in combinatie met ‘targeted nucleases’ worden toegediend aan proefpersonen (IM-MV 21-011). De klinische studies zijn onderdeel van een brede vergunningaanvraag van het Academisch Medisch Centrum te Amsterdam (AMC) en omvat een breed scala aan toedieningswijzen, waaronder het oog. De productiewerkzaamheden van deze AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ zijn reeds vergund. Dit advies richt zich enkel op de maatregelen bij de klinische toepassingen, die zijn opgesteld om verspreiding en blootstelling aan derden te voorkomen.

In mei 2022 heeft de COGEM een generiek advies opgesteld over klinische toepassingen van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’.<sup>1</sup> De maatregelen die worden voorgesteld in onderhavige aanvraag wijken op een aantal punten af van de maatregelen die in dit generieke advies zijn geadviseerd. Derhalve is de COGEM om advies gevraagd.

Onder ‘targeted nucleases’ worden nucleases verstaan die breuken aanbrengen op specifieke posities in het DNA. Hieronder vallen CRISPR-Cas-systemen, waarbij de herkenning van de klievingssequenties wordt geleid door het ‘guide RNA’ (gRNA), maar ook ‘Zinc Finger Nucleases’ (ZFN’s), ‘Transcription Activator Like Effector Nucleases’ (TALEN’s) en meganucleases waarbij de herkenning van de klievingssequenties gebaseerd is op een DNA-eiwit interactie.

### 2. Eerder COGEM advies

Bij klinische toepassingen met AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ heeft de COGEM, bovenop de eerder geadviseerde randvoorwaarden voor de toepassing van AAV-vectoren in klinische studies<sup>2,3</sup>, de volgende generieke maatregelen geadviseerd<sup>1</sup>:

- Gedurende de opname in het ziekenhuis adviseert de COGEM maatregelen te hanteren overeenkomstig met de maatregelen die zijn opgenomen in de WIP-richtlijn Gentherapie (met name hoofdstuk 7: isolatiemaatregelen na toediening), zoals gepubliceerd in 2011<sup>4</sup>;
- Met het oog op mogelijke blootstelling via urine en feces, adviseert de COGEM het gebruik van een eigen toilet (waar geen anderen gebruik van mogen maken) gedurende 2 weken na toediening, en/of gecombineerd met inactivatie door een chlooroplossing;
- Met het oog op mogelijke blootstelling via speeksel en sperma adviseert de COGEM gedurende 2 weken na toediening effectieve contraceptie in de vorm van een fysiek barrièremiddel, zoals een condoom, in acht te nemen en speekseluitwisseling te voorkomen;
- Met het oog op mogelijke blootstelling via bloed adviseert de COGEM dat contact met bloed vermeden moet worden gedurende 2 weken na toediening, en dat er hygiëne-instructies gegeven

dienen te worden aan patiënt en derden als familieleden over het gebruik van pleisters, maandverband en tampons, en dat handen gewassen moeten worden na het verwijderen ervan.

De COGEM heeft destijds opgemerkt dat afgeweken kan worden van deze maatregelen, indien de aanvrager voor de betreffende toepassing hier een goede onderbouwing voor kan aanleveren.

### **3. Korte beschrijving van de klinische studies uit de onderhavige aanvraag**

In de klinische studies uit de onderhavige aanvraag worden replicatie-deficiënte AAV-vectoren, waaruit de *rep* en *cap* genen verwijderd zijn en zijn vervangen door een ‘targeted nuclease’ systeem, toegediend aan proefpersonen. Onder ‘targeted nuclease’ systemen vallen in deze aanvraag: CRISPR-Cas-systemen, ZNF’s, TALEN’s, meganucleases en megaTALS (combinaties tussen meganucleases en TALEN’s). Tevens omvat de aanvraag toekomstige ‘targeted nuclease’ systemen met een vergelijkbare werking als de huidige bekende systemen.

De AAV-vectoren zullen worden toegediend door middel van injectie dan wel infusie, waarbij toediening in de gonaden niet is toegestaan. De maximale dosis per toediening betreft  $2 \times 10^{15}$  vectorgenomen per kilogram lichaamsgewicht. Afhankelijk van de wijze van toediening heeft de aanvrager maatregelen voorgesteld om verspreiding van de vectoren naar het milieu te beperken.

### **4. Maatregelen voorgesteld door de aanvrager**

In de vergunningaanvraag worden maatregelen voorgesteld om verspreiding van het de AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ naar het milieu te beperken. De aanvrager stelt voor om, wanneer verspreiding naar en expressie in andere organen dan het beoogde orgaan, of wanneer off-target effecten niet kunnen worden uitgesloten, de volgende maatregelen te hanteren:

- Tijdens opname in het ziekenhuis wordt de patiënt gehuisvest in een eenpersoonskamer met de standaard ziekenhuismaatregelen voor contactisolatie;
- Het vaststellen van de duur van de ziekenhuisopname is ter beoordeling van de behandelend arts;
- Derden die aanwezig zijn tijdens de toediening worden beschermd tegen blootstelling aan het medisch product;
- De toedieningsplaats wordt tot 24 uur na toediening beschermd door een pleister of verband;
- Gedurende 1 week na toediening van het medisch product (tijdens of na ziekenhuisopname):
  - o Contact van derden met het medisch product is niet toegestaan;
  - o De patiënt dient gebruik te maken van een eigen toilet dat niet door derden wordt gebruikt;
  - o Bij het assisteren van de patiënt en bij het schoonmaken van het toilet worden handschoenen gedragen;
  - o Bij het hanteren van luiers of incontinentiemateriaal worden handschoenen gedragen;
  - o Blootstelling van derden aan urine en ontlasting van de patiënt wordt voorkomen door het toepassen van een gevalideerd desinfectiemiddel waarvoor de betrokkenen instructies krijgen;
  - o Het uitwisselen van speeksel is niet toegestaan;
  - o Het gebruik van een effectief barrière-anticonceptiemiddel is verplicht;
  - o Derden moeten zich ervan bewust zijn dat contact met pleisters; maandverband of tampons niet is toegestaan;

- Handen wassen na contact met of verwisselen van pleisters, maandverband of tampons is verplicht.

De aanvrager stelt dat in het geval het een AAV-vector betreft met een CRISPR-Cas9 ‘targeted nuclease’ waarbij de beoogde nuclease onder de controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor is geplaatst, de bovenstaande maatregelen niet van toepassing zijn en alleen de volgende maatregelen gelden:

- De patiënt draagt gedurende 12 uur na toediening van de klinische vector een oogverband;
- Derden moeten zich ervan bewust zijn dat contact met pleisters, maandverband of tampons niet is toegestaan;
- Handen wassen na contact met of verwisselen van pleisters, maandverband of tampons is verplicht.

De aanvrager stelt deze maatregelen enkel voor CRISPR-Cas9 in combinatie met een fotoreceptorcel-specifieke promotor, derhalve zijn deze maatregelen niet van toepassing voor het gebruik van andere ‘targeted nucleases’ met een fotoreceptorcel-specifieke promotor. In alle andere gevallen acht de aanvrager alle reguliere aanvullende maatregelen, zoals hierboven opgesteld door de aanvrager zelf, van toepassing.

## **5. Ontwerpbeschikking**

In de ontwerpbeschikking zijn de door de vergunningaanvrager voorgestelde maatregelen deels overgenomen. Hierbij is de aanpassing gemaakt dat de voorgestelde maatregelen na toediening van het medisch product (tijdens of na ziekenhuisopname), in plaats van 1 week - zoals voorgesteld door de aanvrager -, gedurende twee weken in acht genomen dienen te worden, conform het generieke advies van de COGEM.<sup>1</sup>

Tevens zijn in de ontwerpbeschikking, bovenop de door de aanvrager voorgestelde reguliere maatregelen, aanvullende maatregelen geformuleerd voor toepassingen waarbij een vector (zonder een fotoreceptorcel-specifieke promotor) in het oog wordt toegediend. Dit omdat hier uitscheiding via traanvocht of nasale uitscheiding niet kan worden uitgesloten. Naast de door de aanvrager genoemde maatregelen, worden voor deze toepassingen tevens de volgende aanvullende maatregelen voorgeschreven:

- Het oog wordt gedurende 2 weken na toediening afgedekt;
- Afval van verbandmateriaal en ander potentieel besmet afvalmateriaal wordt gedurende 2 weken na toediening op een dusdanige manier afgevoerd dat derden niet met dit materiaal in aanraking komen.

De maatregelen die de aanvrager voorstelt voor toediening van AAV-vectoren met een CRISPR-Cas9 ‘targeted nuclease’ waarbij het beoogde nuclease onder de controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor staat, zijn zonder aanpassingen overgenomen in de ontwerpbeschikking.

## **6. Overweging**

In de volgende paragrafen worden de voorgestelde maatregelen bij toediening van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ in proefpersonen behandeld. Er wordt overwogen of de maatregelen zoals

opgenomen in de ontwerpbeschikking voldoende zijn om verspreiding en blootstelling van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ aan derden te voorkomen.

### ***6.1 Duur van de maatregelen na toediening AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’***

De onderliggende aanvraag betreft een brede vergunning, voor een breed scala aan toedieningsroutes en verschillende AAV-vectoren. De mate van uitscheiding, en daarmee de mogelijke blootstelling aan derden, is afhankelijk van de toedieningsroute en de gebruikte vector.<sup>5</sup> De COGEM merkt op dat de blootstelling van derden aan AAV-vectoren aanzienlijk minder vectordeeltjes zal betreffen dan die toegediend aan de patiënt of proefpersoon. Desondanks kan niet generiek worden uitgesloten dat er blootstelling en mogelijk transductie op kan treden in derden, waarbij zich ongewenste effecten kunnen voordoen. Hierbij dient opgemerkt te worden dat verdere verspreiding door het replicatie-deficiënte karakter van de AAV-vector uitgesloten is. Om de kans op onbedoelde blootstelling van derden aan AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ tot een minimum te beperken, heeft de COGEM in haar generieke advies geadviseerd om gedurende twee weken inperkingsmaatregelen te hanteren om blootstelling via bloed, speeksel, feces, sperma en urine te voorkomen.<sup>1</sup>

In de aanvraag wordt voorgesteld deze maatregelen gedurende één week te hanteren (zie paragraaf 4), maar data of een onderbouwing hiervoor is niet aangeleverd. Derhalve ziet de COGEM geen reden om af te wijken van de in haar eerdere advies genoemde periode van twee weken. Zij is het eens met de maatregelen voor de toediening van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ (zonder fotoreceptorcel-specifieke promotor) zoals opgenomen in de ontwerpbeschikking (zie paragraaf 4 en 5).

#### ***6.1.1 Toediening van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ in het oog***

In de ontwerpbeschikking zijn aanvullende maatregelen geformuleerd voor toedieningen in het oog. Geneesmiddelen kunnen op verschillende wijzen in het oog worden toegediend: onder andere via een intravitreale, subretinale of subconjunctivale injectie.

Bij een intravitreale injectie wordt een geneesmiddel in het glasachtige lichaam (corpus vitreum) van het oog geïnjecteerd.<sup>6</sup> Op deze manier kan het netvlies (retina) bereikt worden: het laagje aan de binnenkant van het oog dat de fotoreceptorcellen bevat.<sup>7</sup> In het oog kunnen grote moleculen, zoals monoclonale antistoffen, enkele dagen aanwezig blijven.<sup>8</sup> Stoffen die in het glasachtig lichaam worden toegediend, worden via twee routes geklaard: via het netvlies (retina) en via het oogkamervocht.<sup>9</sup> Het oogkamervocht bevindt zich in de oogkamer, de ruimte tussen het hoornvlies en de lens, en wordt via twee routes uiteindelijk afgevoerd naar de bloedbaan.<sup>10,11</sup>

Bij een subretinale injectie wordt het middel in de ruimte onder het netvlies toegediend, waardoor de fotocelreceptoren direct bereikt worden. Deze methode vereist een operatie aan het glasachtig lichaam (vitrectomie). Omdat subretinale toediening een invasieve methode is, worden er ook recombinante AAV-vectoren ontwikkeld die via intravitreale injectie effectief de fotoreceptoren kunnen bereiken en transduceren.<sup>12</sup>

Bij een subconjunctivale injectie wordt het geneesmiddel in het bindvlies (conjunctiva) geïnjecteerd. Het bindvlies is het slijmvlies dat aan de binnenkant van het ooglid ligt en de buitenzijde van de oogbol bedekt.<sup>13</sup> De slijmbekercellen van het bindvlies produceren slijm dat een deel van de traanfilm vormt:

een beschermend laagje vocht aan de voorkant van het oog.<sup>13</sup> Subconjunctivale injectie van AAV-vectoren is een minder toegepaste methode voor toediening in het oog.

Bij intravitreale en subretinale injectie van AAV-vectordeeltjes is de uitscheiding van vector-DNA waargenomen.<sup>14</sup> In een studie waarbij niet-humane primaten intravitreaal en subretinaal werden geïnjecteerd met een recombinante AAV-vector (serotype 8), werd tot ten minste zeven dagen na toediening vector-DNA gedetecteerd in traanvocht, nasale uitscheiding en urine.<sup>14</sup> De mate waarin het vector-DNA gedetecteerd kon worden in deze secreties, was afhankelijk van de dosis die was toegediend.<sup>14</sup> Er is niet onderzocht of de secreties infectieuze vectordeeltjes bevatten. De distributie van de vector door het lichaam verschilt bij beide injectiemethoden: bij toediening via intravitreale injectie was de vector tot 13 weken detecteerbaar in het bloed, bij subretinale toediening was dit drie dagen.<sup>14</sup> In een andere studie was het vector-DNA van een AAV2/4-vector (serotype 4) tot 25 dagen waarneembaar in het serum van subretinaal geïnjecteerde honden, bij een niet-humane primate was dit 16 dagen.<sup>15</sup> Het AAV2/4-vector-DNA in traan- en neusvocht van de honden was tot vier dagen na injectie waarneembaar, bij niet-humane primaten alleen de eerste dag.<sup>15</sup>

Bij de toediening van AAV-vectoren (serotypes 2, 6 en 8) via subconjunctivale injecties in muizen, is de vector tot minimaal één week na injectie in traanvocht van een deel van de muizen gedetecteerd.<sup>16</sup> Een maand na de injectie werd er geen vector meer gedetecteerd; tijdstippen daartussenin zijn niet gemeten.

De gentherapie Luxturna (voretigene neparvovec) is een voorbeeld van een AAV2-vector die als een subretinale injectie na vitrectomie wordt toegediend.<sup>17</sup> Het middel wordt met een dosis van  $1,5 \times 10^{11}$  vectorgenomen per oog toegediend en mag niet worden toegediend door intravitreale injectie. In het klinische fase 3-onderzoek werden na toediening bij 13 van de 29 proefpersonen vector-DNA aangetroffen in traanvochtmonsters. Bij vier van de proefpersonen was de vector ook na de eerste dag na de injectie nog waarneembaar, bij één van de proefpersonen werd tot 14 dagen na injectie vector-DNA aangetroffen in het traanvocht. Wegens deze bevindingen dienen patiënten die Luxturna ontvangen gedurende 14 dagen na toediening het gebruikte verbandmateriaal en afval met traan- en neusvocht in afgesloten zakken op te bergen, alvorens deze af te voeren.<sup>17</sup> Er zijn geen maatregelen vermeld om verspreiding via andere uitscheidingsroutes, zoals urine of feces, te voorkomen.

Met de onderhavige aanvraag worden veel verschillende toedieningswijzen vergund. De COGEM is van oordeel dat het, gezien de verschillen in bio-distributie en uitscheiding bij verschillende toedieningsmethodes in het oog, niet uitgesloten kan worden dat uitscheiding van AAV-vectoren mogelijk is bij deze toepassing. Derhalve acht de COGEM het noodzakelijk om bij toediening van AAV-vectoren met 'targeted nucleases' in het oog, alle voorgestelde maatregelen m.b.t. urine, uitwerpselen, sperma, speeksel en bloed voor twee weken te behouden.

Gezien bij toediening in het oog ook uitscheiding van AAV-vectoren via traanvocht en neusvocht niet kan worden uitgesloten, is de COGEM van oordeel dat de toediening van AAV-vectoren met 'targeted nucleases' in het oog aanvullende maatregelen behoeft om onbedoelde blootstelling aan derden te voorkomen. De COGEM acht de aanvullende maatregelen zoals opgesteld in de ontwerpbesluiting voldoende, met daarbij de aanpassing dat afdekking van het oog voor 24 uur – in tegenstelling tot de 2

weken zoals opgenomen in de ontwerpbeschikking - volstaat om eventuele uitscheiding en verspreiding te voorkomen. Eveneens is de COGEM van oordeel dat bij de maatregelen zoals opgenomen in de beschikking expliciet vermeld dient te worden dat besmet afval ook afval van traanvocht en neussecreet betreft.

#### 6.1.2 Toediening van AAV-vectoren met CRISPR-Cas9 targeted nucleases mét fotoreceptorcel-specifieke promotor in het oog

In de vergunningaanvraag en de ontwerpbeschikking zijn specifieke maatregelen voorgesteld (vervangend voor de reguliere maatregelen) voor de toediening van een AAV-vector met een CRISPR-Cas9 ‘targeted nuclease’ waarbij het nuclease onder de controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor is geplaatst (zie paragraaf 4).

Bij toediening middels injecties in het oog kan de AAV-vector o.a. via traanvocht, neussecreet of urine worden uitgescheiden.<sup>14,16,17</sup> Door gebruik te maken van een fotoreceptorcel-specifieke promotor wordt de expressie van de ‘targeted nuclease’ beperkt tot fotoreceptorcellen in het netvlies. Indien derden onbedoeld worden blootgesteld aan de AAV-vector, zal het nuclease alleen tot expressie komen in de fotoreceptoren van het netvlies.

De COGEM heeft eerder geadviseerd over een klinische studie met een AAV2/5-vector met een nuclease onder controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor.<sup>18</sup> De COGEM heeft destijds opgemerkt dat ook de AAV-ITR's de promotoractiviteit van het transgen kunnen beïnvloeden.<sup>19</sup> Zij achtte het derhalve niet geheel uitgesloten dat het transgen mogelijk ook in andere celtypen laag tot expressie kan komen. Zij stemde in met de door de aanvrager voorgestelde maatregelen, waarbij de patiënt de eerste dag na de behandeling een ooglapje draagt, er standaardmaatregelen getroffen worden met betrekking tot ziekenhuishygiëne, en aan de patiënt en verzorgers instructies gegeven worden met betrekking tot het afvoeren van afvalmateriaal gedurende de eerste zeven dagen na de behandeling.

In de onderhavige brede aanvraag heeft de aanvrager een drietal maatregelen voorgesteld voor toediening van AAV-vectoren met een fotoreceptorcel-specifieke promotor voor de expressie van een CRISPR-Cas9 nuclease. Deze maatregelen hebben enkel betrekking op het beperken van verspreiding van de vector via bloed. De COGEM is van oordeel dat uitscheiding van de vector via secreties niet kan worden uitgesloten, en is derhalve van oordeel dat alle maatregelen met betrekking tot het beperken van uitscheiding via urine, ontlasting, speeksel, sperma, bloed, neussecreet en traanvocht, in acht genomen dienen te worden voor een periode van één week. Deze periode is gelijk aan haar eerdere (hierboven genoemde) advies voor de toediening van AAV-vectoren met een nuclease onder de controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor.<sup>18</sup> Hierbij merkt de COGEM op dat de door de aanvrager voorgestelde 12 uur voor het dragen van een ooglapje korter is dan de eerder door de COGEM geadviseerde periode van één dag.<sup>18</sup> De keuze voor deze kortere duur is niet onderbouwd met gegevens; derhalve ziet de COGEM geen reden om af te wijken van de eerder geadviseerde periode voor het dragen van een ooglapje.

Het bovenstaande in overweging nemende is de COGEM van oordeel dat de door de aanvrager opgestelde maatregelen (paragraaf 4), die zonder aanpassing zijn overgenomen in de ontwerpbeschikking (paragraaf 5), aangevuld dienen te worden met de eerder genoemde maatregelen om verspreiding via urine, ontlasting, speeksel, sperma, bloed, neussecreet en traanvocht te voorkomen.



De inachtneming van deze maatregelen voor één week en het dragen van een ooglapje voor ten minste 24 uur na toediening, acht de COGEM voldoende om onbedoelde blootstelling aan derden te voorkomen.

## **6.2 Overige toedieningsroutes**

De mate van uitscheiding van een AAV-vector is onder andere afhankelijk van de toedieningsroute. De onderhavige vergunningaanvraag omvat toediening door middel van injectie dan wel infusie, waarbij toediening in de gonaden niet is toegestaan. Bij enkele toedieningsroutes kan een verhoogde uitscheiding verwacht worden. Bijvoorbeeld, indien AAV-vectoren worden toegediend in de blaas (intravesicale toediening) zal dit leiden tot efficiënte uitscheiding van AAV-vectoren via urine. Naast toediening in de blaas zouden de vectoren in theorie ook rectaal toegediend kunnen worden, of in het maagdarmsstelsel (via klysmas e.d.). In de voorgestelde maatregelen is de hygiëne rondom urine en ontlasting van de patiënt meegenomen: de patiënt heeft een eigen toilet en blootstelling van derden aan urine en ontlasting van de patiënt wordt voorkomen. De COGEM is van oordeel dat ook bij toedieningsroutes waarbij de uitscheiding potentieel verhoogd is, de reeds opgestelde maatregelen blootstelling aan derden afdoende voorkomen, mits deze voor twee weken worden opgevolgd.

De COGEM wijst erop dat de toediening van AAV-vectoren ook via inhalatie zou kunnen plaatsvinden, hetgeen onder de onderhavige vergunningaanvraag niet expliciet uitgesloten lijkt te zijn. Bij toediening via inhalatie dient rekening gehouden te worden met de vorming van aerosolen. De COGEM merkt op dat indien inhalatietherapie wordt toegepast, dit plaats dient te vinden in een isolatiekamer met onderdruk.<sup>4</sup>

## **7. Advies**

De COGEM heeft geadviseerd om bij toepassingen van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ aanvullende hygiënemaatregelen te hanteren om blootstelling aan derden te beperken.<sup>1</sup> De COGEM is het grotendeels eens met de maatregelen zoals opgenomen in de ontwerpbesluit, maar adviseert enkele aanpassingen. Ten eerste het expliciet benoemen dat bij toediening in het oog (zonder fotoreceptorcel-specifieke promotor) ook met traan- of neusvocht besmet afval gedurende twee weken op een dusdanige wijze afgevoerd moet worden dat derden hiermee niet in aanraking kunnen komen. Ten tweede, betreffende toediening van AAV-vectoren met CRISPR-Cas9 nucleases onder controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor: de inachtneming van maatregelen om verspreiding via urine, ontlasting, speeksel, sperma, bloed, neussceet en traanvocht te voorkomen voor de periode van één week, en het langer dragen van een oogverband (conform het eerdere COGEM advies<sup>18</sup>).

Met de toepassing van onderstaande maatregelen, is de COGEM van oordeel dat de risico's voor mens en milieu bij klinische studies met AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ verwaarloosbaar klein zijn. Samenvattend, gelden bij de toediening van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ middels injectie of infusie, de volgende maatregelen:

- Tijdens opname in het ziekenhuis wordt de patiënt gehuisvest in een eenpersoonskamer met de standaard ziekenhuismaatregelen voor contactisolatie;
- Derden die aanwezig zijn tijdens de toediening worden beschermd tegen blootstelling aan het medisch product;

- De toedieningsplaats wordt tot 24 uur na toediening beschermd door een pleister of verband.
- Gedurende 2 weken na toediening van het medisch product (tijdens of na ziekenhuisopname):
  - o Contact van derden met het medisch product is niet toegestaan;
  - o De patiënt dient gebruik te maken van een eigen toilet, dat niet door derden wordt gebruikt;
  - o Bij het assisteren van de patiënt en bij het schoonmaken van het toilet worden handschoenen gedragen;
  - o Bij het hanteren van luiers of incontinentiemateriaal worden handschoenen gedragen;
  - o Blootstelling van derden aan urine en ontlasting van de patiënt wordt voorkomen door het toepassen van een gevalideerd desinfectiemiddel waarvoor de betrokkenen instructies krijgen;
  - o Het uitwisselen van speeksel is niet toegestaan;
  - o Het gebruik van een effectief barrière-anticonceptiemiddel is verplicht;
  - o Derden moeten zich ervan bewust zijn dat contact met pleisters; maandverband of tampons niet is toegestaan;
  - o Handen wassen na contact met of verwisselen van pleisters, maandverband of tampons is verplicht.

Indien een AAV-vector met ‘targeted nuclease’ in het oog wordt geïnjecteerd, waarbij er géén fotoreceptorcel-specifieke promotor wordt toegepast, kan uitscheiding via traanvocht of neussecreet niet worden uitgesloten. Aanvullend op de bovenstaande maatregelen, zijn bij deze toepassing de volgende maatregelen van toepassing:

- Het oog wordt ten minste 24 uur na toediening afgedekt;
- Afval van gebruikt verbandmateriaal, traanvocht, neussecreet en ander potentieel besmet afvalmateriaal, wordt gedurende 2 weken na toediening op een dusdanige manier afgevoerd dat derden niet met dit materiaal in aanraking komen.

In het geval dat, bij toediening in het oog, het een AAV-vector betreft met een CRISPR-Cas9 ‘targeted nuclease’ waarbij het nuclease onder de controle van een fotoreceptorcel-specifieke promotor is geplaatst, gelden alleen de volgende maatregelen:

- De patiënt draagt ten minste 24 uur na toediening van het medisch product een oogverband;
- Afval van gebruikt verbandmateriaal, traanvocht, neussecreet en ander potentieel besmet afvalmateriaal, wordt gedurende één week na toediening op een dusdanige manier afgevoerd dat derden niet met dit materiaal in aanraking komen.
- Gedurende één week na toediening van het medisch product (tijdens of na ziekenhuisopname):
  - o Contact van derden met het medisch product is niet toegestaan;
  - o De patiënt dient gebruik te maken van een eigen toilet, dat niet door derden wordt gebruikt;
  - o Bij het assisteren van de patiënt en bij het schoonmaken van het toilet worden handschoenen gedragen;
  - o Bij het hanteren van luiers of incontinentiemateriaal worden handschoenen gedragen;

- Blootstelling van derden aan urine en ontlasting van de patiënt wordt voorkomen door het toepassen van een gevalideerd desinfectiemiddel waarvoor de betrokkenen instructies krijgen;
- Het uitwisselen van speeksel is niet toegestaan;
- Het gebruik van een effectief barrière-anticonceptiemiddel is verplicht;
- Derden moeten zich ervan bewust zijn dat contact met pleisters; maandverband of tampons niet is toegestaan;
- Handen wassen na contact met of verwisselen van pleisters, maandverband of tampons is verplicht.

## Referenties

1. COGEM (2022). Klinische toepassing van AAV-vectoren met ‘targeted nucleases’ zoals CRISPR-Cas9. COGEM advies CGM/220311-01
2. COGEM (2019). Generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies met AAV-vectoren. COGEM advies CGM/190905-01
3. COGEM (2020). Briefadvies markttoelatingen van medische ggo-producten die onder de generieke milieurisicobeoordeling van klinische studies vallen. COGEM advies CGM/201214-02
4. Werkgroep Infectie Preventie (WIP)-richtlijn Gentherapie. <https://www.rivm.nl/wip-richtlijn-gentherapie-zkh> (bezoekt op 22-07-2022)
5. Brandon EFA *et al.* (2010). Effect of Administration Route on the Biodistribution and Shedding of Replication-Deficient AAV2: A Qualitative Modelling Approach. *Curr. Gene Ther.* 10: 91-106
6. Oogfonds. Glasachtig lichaam. <https://oogfonds.nl/onze-ogen/anatomie/anatomie-van-het-oog/glasachtig-lichaam/> (bezoekt op 08-08-2022)
7. Oogfonds. Netvlies. <https://oogfonds.nl/onze-ogen/anatomie/anatomie-van-het-oog/netvlies/> (bezoekt op 08-08-2022)
8. Meyer CH *et al.* (2016). Routes for Drug Delivery to the Eye and Retina: Intravitreal Injections. *Dev. Ophthalmol.* 55: 63–70
9. Meyer CH *et al.* (2016). Routes for drug delivery to the eye and retina: intravitreal injections. *Dev. Ophthalmol.* 55: 63-70
10. Oogartsen.nl Topklinische Ziekenhuizen. Bouw en functie van het oog. <https://www.oogartsen.nl/het-oog/bouw-functie/> (bezoekt op 18-08-2022)
11. Hoyng PHFJ & Rasker MTE (1998). Vier nieuwe geneesmiddelen bij glaucoom: apraclonidine, brimonidine, dorzolamide en latanoprots. *Ned. Tijdschr. Geneesk.* 142: 39
12. Pavlou M *et al.* (2021). Novel AAV capsids for intravitreal gene therapy of photoreceptor disorders. *EMBO Mol. Med.* 13: e13392
13. Oogfonds. Bindvlies. <https://oogfonds.nl/onze-ogen/anatomie/anatomie-van-het-oog/bindvlies/> (bezoekt op 08-08-2022)
14. Seitz IP *et al.* (2017). Superior retinal gene transfer and biodistribution profile of subretinal versus intravitreal delivery of AAV8 in nonhuman primates. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 58: 5792–5801

15. Weber M *et al.* (2003). Recombinant adeno-associated virus serotype 4 mediates unique and exclusive long-term transduction of retinal pigmented epithelium in rat, dog, and nonhuman primate after subretinal delivery. *Mol. Ther.* 7: 774–781
16. Song L *et al.* (2018). Serotype survey of AAV gene delivery via subconjunctival injection in mice. *Gene ther.* 25: 402–414
17. Novartis. Luxturna® (voretigene neparvovec) bijsluiter (informatie voor de patiënt) en SmPC (informatie voor de arts) 09-nov-2021 <https://www.novartis.nl/medicijnen/luxturna> (bezocht op 08-08-2022)
18. COGEM (2021). Klinische studie met AAV-vector met CRISPR-associated protein (Cas)9 ter behandeling van patiënten met Leber congenitale amaurosis type 10 (LCA10). COGEM advies CGM/211208-02
19. Earley LF *et al.* (2020). Adeno-associated virus serotype-specific inverted terminal repeat sequence role in vector transgene expression. *Hum. Gene Ther.* 31: 151–162