



Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

**Risicobeoordelingsmethode voor  
organismen met een gene drive  
toegepast onder ingeperkt gebruik**

RIVM Briefrapport 2018-0028  
C. van der Vlugt et al.





Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu  
*Ministerie van Volksgezondheid,  
Welzijn en Sport*

## **Risicobeoordelingsmethode voor organismen met een gene drive toegepast onder ingeperkt gebruik**

RIVM Briefrapport 2018-0028  
C. van der Vlugt et al.

## Colofon

© RIVM 2018

Delen uit deze publicatie mogen worden overgenomen op voorwaarde van bronvermelding: Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu (RIVM), de titel van de publicatie en het jaar van uitgave.

DOI 10.21945/RIVM-2018-0028

C. van der Vlugt (auteur), RIVM  
E. van den Akker (expert), RIVM  
C. Roesink (expert), RIVM  
J. Westra (auteur), RIVM

Contact:

Cécile van der Vlugt  
Gentechnologie en Biologische Veiligheid  
cecile.van.der.vlugt@rivm.nl

Dit onderzoek werd verricht in opdracht van IenW, in het kader van Veiligheid Biotechnologie

Dit is een uitgave van:  
**Rijksinstituut voor Volksgezondheid  
en Milieu**  
Postbus 1 | 3720 BA Bilthoven  
Nederland  
www.rivm.nl

## Publiekssamenvatting

### **Risicobeoordelingsmethode voor organismen met een 'gene drive' toegepast onder ingeperkt gebruik**

Een gene drive is een genetische eigenschap die nagenoeg aan alle nakomelingen kan worden doorgegeven. Hierdoor kan een gene drive zich snel en blijvend in een hele populatie verspreiden. Gene drives kunnen van nature voorkomen of door genetische modificatie in laboratoria worden gemaakt. Het hier onderzochte gebruik van een gene drive betreft deze laatste vorm. De meeste ontwikkelingen zitten nog in de onderzoeksfase en het zal nog jaren duren voordat ze in de praktijk kunnen worden gebruikt. Ondertussen is het van belang om te kunnen bepalen hoe in de onderzoeksfase in laboratoria en dierverblijven ('ingeperkt gebruik') veilig met gene drives kan worden gewerkt.

Het RIVM signaleerde in 2015 dat mogelijk schadelijke effecten van organismen met een gene drive op mens en milieu niet of onvoldoende beoordeeld kunnen worden met de tot dan toe gebruikte methode van risicobeoordeling voor ingeperkt gebruik. Uit vervolgonderzoek blijkt dat de methode wel aanknopingspunten biedt voor een goede risicobeoordeling, en die zijn nu uitgewerkt. Ook blijkt dat de risicobeoordeling op basis van andere schadelijke effecten moet worden uitgevoerd dan waarmee tot nu toe ervaring was opgedaan. Daarnaast worden maatregelen voorgesteld die de mogelijke risico's bij ingeperkt gebruik tot een minimum kunnen beperken, zoals een extra veiligheidskooi of sluis in het laboratorium. Deze maatregelen verschillen per groep van organismen; voor insecten zijn ze bijvoorbeeld anders dan voor knaagdieren.

Het RIVM onderstreept het belang om goed aangesloten te blijven bij de wetenschappelijke ontwikkelingen op het gebied van gene drive-toepassingen. Ook is het, mede gezien de mogelijk grensoverschrijdende effecten, nodig om in internationaal en in Europees verband in gesprek te gaan over de risicobeoordelingsmethode voor ingeperkt gebruik van gene drives. Het RIVM werkte voor dit onderzoek dan ook samen met kennisinstellingen uit Engeland, België en Duitsland.

Met de wetwijziging van de Regeling ggo in juli 2016 heeft het ministerie van IenW bepaald dat voor alle toepassingen met gene drives een vergunning moet worden aangevraagd. De regeling biedt met de hier beschreven risicobeoordelingsmethode voldoende flexibiliteit om de technologie toe te staan wanneer de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar zijn.

Kernwoorden: gene drive, CRISPR/Cas9, genetisch gemodificeerd organisme, ingeperkt gebruik, risicobeoordelingsmethode, risicomangement.



## Synopsis

### **Risk assessment method for organisms with a 'gene drive' applied in contained use**

A gene drive is a genetic trait that can be passed on to almost all the offspring. As a result, a gene drive can spread quickly and permanently through an entire population. Gene drives can occur naturally or may be created in laboratories by genetic modification. The use of gene drives investigated here refers to the latter form. The majority of developments are still in the R&D phase and it will be a number of years yet before they can be used in practice. In the meantime, it is important to be able to determine how to use gene drives safely in laboratories and animal centres ("contained use")

In 2015 RIVM warned that potentially harmful effects of organisms with a gene drive on humans and on the environment cannot be assessed (or not sufficiently assessed) with the method used until then for risk assessment for contained use. Follow-up research has shown that the method does offer leads that will permit proper risk assessment, and those leads have now been examined in detail. It was also observed that the risk assessment must be based on other harmful effects than the ones that have been researched so far. In addition, measures were proposed that could minimise the potential risks of contained use, such as an extra safety cage or airlock in the laboratory. These measures vary depending on the type of organisms; they are for instance different for insects than for rodents.

RIVM stresses the importance of remaining properly aligned with scientific developments in gene drive applications. Given the potential for cross-border effects as well, it is also necessary to enter into discussions in international and European contexts about the risk assessment method for contained use of gene drives. For this research RIVM has been collaborating with knowledge institutes in England, Belgium and Germany.

In the legislative amendment to the GMO Regulation in July 2016, the Ministry of Infrastructure and Water Management decreed that permits must be requested for all applications using gene drives. The rules, with the risk assessment method described here, offer sufficient flexibility to permit the technique when the risks for humans and the environment are negligible.

Keywords: gene drive, CRISPR/Cas9, genetically modified organism, contained use, risk assessment, risk management.





## Inhoudsopgave

### **Samenvatting — 9**

<b>1</b>	<b>Inleiding — 11</b>
1.1	Aanleiding — 11
1.2	Toelichting op de wijziging van de Regeling ggo, juli 2016 — 11
1.3	Onderzoeksvragen — 12
1.4	Afbakening — 13
1.5	Leeswijzer — 14
<b>2</b>	<b>Werkwijze — 15</b>
2.1	Aanpak van de onderzoeksvragen — 15
2.2	Interview van Nederlands onderzoeksveld — 15
2.3	Werkbijeenkomst van experts — 15
2.4	Werkgroep EU risicobeoordelaars — 15
<b>3</b>	<b>Opbrengst uit interviews en werkbijeenkomst — 17</b>
3.1	Verkenning Nederlands onderzoeksveld — 17
3.2	Europese werkbijeenkomst — 17
<b>4</b>	<b>Uitwerking van de risicobeoordelingsmethode en het risicomangement — 19</b>
4.1	Uitwerking van de risicobeoordelingsmethode — 19
4.1.1	Onderzoeksvraag en aanpak — 19
4.1.2	Invulling van de risicobeoordelingsmethode — 19
4.1.2.1	Identificatie van mogelijk schadelijke effecten — 19
4.1.2.2	Bepaling van de ernst en waarschijnlijkheid — 20
4.1.2.3	Bepaling van de gdo risicoklasse — 21
4.2	Vaststelling van het risicomangement — 21
4.2.1	Onderzoeksvraag en aanpak — 21
4.2.2	Voorstel voor inperkingsmaatregelen — 22
4.3	Incidentmanagement — 23
4.3.1	Onderzoeksvraag en aanpak — 23
4.3.2	Mogelijkheden voor incidentmanagement — 23
<b>5</b>	<b>Conclusies en aanbevelingen — 25</b>
5.1	Conclusies — 25
5.2	Aanbevelingen — 26
5.2.1	Kennisontwikkeling en informatie verzameling — 26
5.2.2	Internationale discussie — 27
<b>6</b>	<b>Aanbevelingen toegesneden op de Nederlandse vergunningverlening — 29</b>
6.1	Aanvraag tot een vergunning — 29
6.2	Risicobeoordeling van organismen met een gene drive volgens de methode van Bijlage 8 — 29
6.3	Vaststelling van inperkingsmaatregelen volgens Bijlage 9 — 30
<b>7</b>	<b>Referenties — 31</b>

**Bijlage 1 Risicobeoordelingsmethode van ggo's volgens de Richtlijn 2009/41/EG — 33**

**Bijlage 2 Tabel met inperkingsmaatregelen die minimaal nodig zijn voor een ingeperkt gebruik activiteit van gdo risicoklasse 1, 2 of 3. — 35**

**Bijlage 3 Uitgewerkte voorbeelden van de risicobeoordeling van activiteiten met een gdo — 37**

## Samenvatting

Een gene drive zorgt voor het doorgeven van een veranderde of nieuwe genetische eigenschap aan nagenoeg alle, in plaats van aan een deel van de nakomelingen. Hierdoor kan deze eigenschap zich permanent en versneld in een hele populatie verspreiden. Het RIVM signaleerde in 2015 dat de mogelijke schadelijke effecten van een organisme met een gene drive dat toegepast wordt onder ingeperkt gebruik, niet of in onvoldoende mate beoordeeld kunnen worden binnen de tot dan gehanteerde methode van risicobeoordeling voor genetisch gemodificeerde organismen.

Op verzoek van het Ministerie van IenW heeft het RIVM onderzoek verricht naar wat nodig is om de risico's van organismen met een gene drive te kunnen beoordelen en inzicht te geven in wat nodig is om toereikende (internationale) maatregelen voor risicobeheersing voor ingeperkt gebruik te kunnen treffen.

Het onderzoek is in drie fasen uitgevoerd. Allereerst zijn er interviews afgenomen in het Nederlandse onderzoeksveld. Hieruit kwam naar voren dat er op dat moment nog geen initiatieven waren voor toepassing van gene drive technologie in het eigen onderzoek. Daarnaast werd duidelijk dat gene drives enkel interessant werden bevonden voor toepassing in natuurlijke populaties en niet om dierpopulaties die in het laboratorium worden gebruikt, genetisch aan te passen. Toepassing van een gene drive zou daarmee voor fundamenteel onderzoek dan wel voor het ontwikkelen van een populatie voor doelbewuste introductie in het milieu het waarschijnlijkst zijn.

Als tweede stap is een werkbijeenkomst georganiseerd bestaande uit Europese onderzoekers, biologische veiligheidsfunctionarissen en risicobeoordelaars. Tijdens de werkbijeenkomst zijn scenario's voor toepassing van een gene drive in resp. gist, muis en fruitvlieg besproken. Hieruit kwam naar voren dat een ontsnapping van een gene drive organisme uit een laboratorium onvoorspelbare, en mogelijk grote gevolgen kan hebben voor mens en milieu. Vanwege het verspreidingspotentieel van deze organismen kan een gene drive zich namelijk snel en blijvend in een populatie verspreiden en kan de verspreiding mogelijk ook over landsgrenzen heen gaan. In dat geval vonden de experts dat buurlanden geïnformeerd moesten worden op het moment dat zich een incident heeft voorgedaan met een (ernstig) risico voor mens en milieu.

In deze werkbijeenkomst werd de eerdere conclusie van het RIVM bevestigd dat voor het beoordelen van de risico's vooral de ernst van en mogelijkheid tot verspreiding van een gene drive vanuit het laboratorium relevant is. In de huidige methode van risico beoordelen is daar weinig ervaring mee, omdat het aspect van pathogeniteit (ziekte veroorzakend) het meest voorkomende effect is dat moet worden beoordeeld. De experts concludeerden ook dat de risicobeoordelingsmethode volgens de Europese richtlijn 2009/41 inzake het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde micro-organismen

voldoende aanknopingspunten biedt om ook organismen met een gene drive te kunnen beoordelen.

Als derde stap van de onderzoekaankpak is een werkgroep van risicobeoordelaars uit Engeland, Duitsland, België en Nederland geformeerd die zich verdiept heeft in het uitwerken van een risicobeoordelingsmethode voor gene drive toepassingen, het opstellen van passende beheersmaatregelen en mogelijkheden van incidentmanagement voor ingeperkt gebruik.

De methode van risicobeoordeling bestaat uit drie elementen: 1) identificatie van de mogelijk schadelijke effecten, 2) bepaling van de ernst en de waarschijnlijkheid dat deze effecten kunnen optreden en 3) bepaling van een risicoklasse. De wijze waarop deze methode ingevuld kan worden voor organismen met een gene drive is stapsgewijs beschreven in dit rapport, evenals twee voorbeelden van een risicobeoordeling van een dergelijk organisme.

Ook is gekeken naar welke inperkingsmaatregelen nodig zijn om de risico's verwaarloosbaar klein te houden. Gene drives kunnen toegepast worden in onder meer gist, insecten en knaagdieren. Omdat de biologie van deze groepen van organismen verschillend is, is voor elke groep een specifieke set van inperkingsmaatregelen voorgesteld. Verder worden er werkvoorschriften voorgesteld en mogelijkheden voor een adequaat optreden door de gebruiker in geval van een incident.

Het RIVM benadrukt het belang om de ontwikkelingen van de gene drive technologie te blijven volgen via de wetenschappelijke literatuur en aansluiting bij het internationale netwerk. Er vindt momenteel een enorme kennisontwikkeling plaats over de fundamentele toepassingsmogelijkheden van de technologie.

Ook onderstreept het RIVM het belang van Europese overeenstemming over de wijze van risicobeoordeling en risicomangement van organismen met een gene drive toegepast onder ingeperkt gebruik, mede gezien de mogelijk grensoverschrijdende gevolgen in geval van ontsnapping van dergelijk organisme uit een laboratorium.

Tot slot doet het RIVM aanbevelingen specifiek toegesneden op de Nederlandse vergunningverlening. De Regeling ggo biedt voldoende flexibiliteit om toestemming te kunnen verlenen voor activiteiten met een organisme met een gene drive, indien het risico van de activiteit verwaarloosbaar klein is voor mens en milieu.

## 1 Inleiding

### 1.1 Aanleiding

In de beleidssignalering 'Gene drives' [1] heeft het RIVM een aantal aanbevelingen gedaan aan het toenmalige Ministerie van Infrastructuur en Milieu (IenM). Een van de aanbevelingen was om nader onderzoek te laten verrichten naar de risicobeoordelingsmethode voor organismen met een gene drive toegepast onder laboratorium omstandigheden, het zgn. 'ingeperkt gebruik'. Daarnaast heeft het RIVM aanbevolen om alle toepassingen van de gene drive technologie onder de vergunningplicht te brengen en om het onderwerp gene drive in internationale context te agenderen.

#### **Wat is een gene drive en waarom zorg?**

In augustus 2015 publiceerden 26 wetenschappers een brief in Science [2] met een oproep tot het treffen van veiligheidsmaatregelen voor het gebruik van een genetische techniek die *gene drive* wordt genoemd. Een gene drive is een genetische eigenschap die een bestaande eigenschap in een populatie kan uitschakelen, veranderen of een nieuwe eigenschap kan toevoegen aan het DNA van een organisme. Deze eigenschap verspreidt zich *snel* en mogelijk *irreversibel* in een *hele populatie* van een organisme. Het RIVM signaleerde in 2015 [1] dat de mogelijk schadelijke effecten van de gene drive op mens en milieu niet of in onvoldoende mate beoordeeld konden worden binnen de tot dan toe gehanteerde methode van risicobeoordeling voor ingeperkt gebruik.

Naar aanleiding van de RIVM beleidssignalering heeft de staatssecretaris van IenM de Tweede Kamer geïnformeerd over de nieuwe biotechnologische ontwikkeling 'gene drives'. In haar brief [3] geeft de staatssecretaris aan maatregelen te zullen treffen bij de vergunningverlening voor ingeperkt gebruik met genetisch gemodificeerde organismen (ggo's) om te voorkomen dat de gene drive technologie toegepast kan worden zonder dat is vastgesteld dat de risico's daarvan verwaarloosbaar klein zijn. Deze maatregelen zijn in juli 2016 geëffectueerd door een wijziging van de Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013 (Regeling ggo) [4].

Daarnaast heeft de staatssecretaris in haar brief aangegeven dat het RIVM gevraagd zou worden inzicht te verwerven in wat nodig is om de risico's van organismen met een gene drive beter te kunnen beoordelen en om toereikende (internationale) maatregelen voor risicobeheersing te kunnen treffen. De onderzoeksvragen worden in paragraaf 1.3 benoemd. In de volgende paragraaf wordt eerst weergegeven wat de wijziging van de Regeling ggo heeft bewerkstelligd.

### 1.2 Toelichting op de wijziging van de Regeling ggo, juli 2016

Het Ministerie van IenM (nu het Ministerie van Infrastructuur en Waterstaat (IenW)) heeft naar aanleiding van eerdergenoemd RIVM rapport een wijziging in de Regeling ggo [4] doorgevoerd die als doel heeft de gene drive technologie toegepast onder ingeperkt gebruik onder de vergunningplicht te brengen. Hierdoor wordt de activiteit case-

by-case beoordeeld en worden de vereiste inperkingsmaatregelen vastgesteld. Indien het risico voor mens en milieu verwaarloosbaar klein is met deze maatregelen, kan de activiteit vergund worden. Deze procedure borgt de veiligheid op generiek niveau en maakt innovatie mogelijk voor individuele activiteiten.

De aanpassing van de Regeling ggo is als volgt vormgegeven. Aan Bijlage 5 is een inschalingsartikel toegevoegd, dat activiteiten met organismen met een gene drive formuleert en onder het strengste inperkingsniveau brengt, en daarmee onder de vergunningplicht. Een aanvrager die organismen vervaardigt met de gene drive technologie wil toepassen kan om een lager inperkingsniveau verzoeken ingevolge art. 2.8 van het Besluit ggo milieubeheer 2013 (Besluit ggo) [5], voor zover hij kan onderbouwen dat op dat lagere niveau de risico's voor mens en milieu verwaarloosbaar klein zijn.

**Inschalingsartikel 5.0 van Bijlage 5 van de Regeling ggo [4]:**

Activiteiten met organismen die in staat zijn tot geslachtelijke voortplanting en waarbij gebruik wordt gemaakt van genetische informatie die codeert voor een sequentie-specifiek endonuclease dat kan integreren op of nabij een positie in het gastheergenoom die overeenkomt met de knipplaats van het endonuclease.

Inschaling: niveau IV.

Toelichting: een endonuclease is een eiwit dat een knip kan aanbrengen in het DNA. Sequentie-specifiek wil zeggen dat deze knip alleen kan plaatsvinden op een plek in het genoom die specifiek door het endonuclease herkend wordt en vaak uniek is. Een voorbeeld van een sequentie-specifiek endonuclease is CRISPR/Cas9, maar ook een zgn. Zn-finger nuclease is een sequentie-specifiek endonuclease.

In de RIVM beleidssignalering [1] is ook de zorg benoemd dat een gene drive 'onbedoeld' gecreëerd zou kunnen worden. Deze zorg was gelegen in het feit dat de individuele genetische elementen van een gene drive als gangbare hulpmiddelen van 'genome editing' op het laagste inperkingsniveau kunnen worden toegepast in combinatie met apathogene organismen zoals knaagdieren of insecten. Hierdoor zou door onoordeelkundig gebruik van het combineren van deze genetische elementen een gene drive gemaakt kunnen worden en op een te laag inperkingsniveau toegepast kunnen worden. Het inschalingsartikel formuleert nu de criteria (zie ook [6]) waarbij het gebruik van deze elementen tot een gene drive kunnen leiden. Door opname van deze criteria in Bijlage 5, de basis voor de verplichte risicobeoordeling, is de zorg dat een gene drive onbedoeld gecreëerd kan worden, weggenomen.

### 1.3 Onderzoeksvragen

Het RIVM identificeerde in haar beleidssignalering [1] kennislacunes op het gebied van de risicobeoordeling en het risicomanagement van organismen met een gene drive toegepast onder ingeperkt gebruik.

### **RIVM aanbevelingen met betrekking tot de risicobeoordelingsmethode voor ingeperkt gebruik**

- welke wetenschappelijke afwegingen spelen een rol bij de inrichting van een beoordelingsmethodiek voor organismen met een gene drive;
- welke inperkingsmaatregelen zijn geschikt en effectief voor organismen met een gene drive en op welke wijze kan dat worden vastgesteld;
- welke additionele gegevens en kennis zijn noodzakelijk om een adequate risicobeoordeling uit te voeren en een beheersaanpak op te stellen;
- in welke mate is dit type kennis al voorhanden of moet dat juist verder ontwikkeld worden;
- het verder specificeren van de kans dat onbedoeld een gene drive kan worden gecreëerd en wanneer dit tot een risico kan leiden.

Op verzoek van het Ministerie van IenW heeft het RIVM vervolgonderzoek uitgevoerd en zijn de aanbevelingen aangescherpt tot de volgende onderzoeksvragen:

1. Op welke wijze is er invulling te geven aan de methode van risicobeoordeling voor het ingeperkt gebruik van ggo's met een gene drive zodat toereikende maatregelen voor risicobeheersing vast te stellen zijn?
2. Welke inperkingsmaatregelen zijn er nodig om het risico op verspreiding van een organisme met een gene drive naar het milieu verwaarloosbaar klein te maken?
3. Welke mogelijkheden zijn er voor incidentmanagement?

In hoeverre kennis en informatie beschikbaar is (zie derde en vierde punt van de oorspronkelijke aanbevelingen) om deze vragen te kunnen beantwoorden, wordt duidelijk aan de hand van de in dit rapport gepresenteerde onderzoeksresultaten en conclusies. Hieruit zal blijken of er aanvullend onderzoek nodig is naar additionele gegevens en kennis.

Aan de aanbeveling om de kans verder te specificeren dat er onbedoeld een gene drive kan worden gecreëerd, is invulling gegeven door die kans uit te sluiten door opname van een specifiek inschalingsartikel in Bijlage 5 van de Regeling ggo (zie 1.2).

De derde onderzoeksvraag naar incidentmanagement is op verzoek van het Ministerie van IenW toegevoegd.

## **1.4 Afbakening**

Dit rapport richt zich op de risicobeoordelingsmethode voor organismen met een gene drive toegepast onder ingeperkt gebruik. Deze keuze is gebaseerd op het feit dat gene drive technologie eerst ontwikkeld wordt in een laboratorium en daarna pas tot een eventuele doelbewuste introductie in het milieu zal leiden. Bovendien wordt er aan de milieurisicobeoordeling al veel aandacht besteed in internationale gremia, bv. via de National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NAS), VS en de Lorentz workshop, Leiden.

Met gene drive wordt in dit rapport een gene drive bedoeld die voldoet aan de formulering van het inschalingsartikel vermeld in 2.1 en die dus via genetische modificatie tot stand komt.

Bij sommige toepassingen van een gene drive wordt een extra genetische eigenschap, een zgn. 'cargo gen', aan de gene drive toegevoegd. Ook van het cargo gen moeten de mogelijk schadelijke effecten in de risicobeoordeling bepaald worden. In dit rapport wordt echter de focus gelegd op de mogelijk schadelijke effecten van de gene drive zelf in de risicobeoordeling.

## **1.5 Leeswijzer**

Dit rapport beschrijft het onderzoek dat het RIVM heeft uitgevoerd naar de behoeften voor een adequate uitvoering van de risicobeoordeling van, en vaststelling van beheersmaatregelen voor organismen met een gene drive toegepast onder ingeperkt gebruik.

Hoofdstuk 2 geeft een beschrijving van de werkwijze die bij het onderzoek gevolgd is. Hoofdstuk 3 benoemt de opbrengst van de kennis- en informatieverzameling, waarna in Hoofdstuk 4 ingegaan wordt op de beantwoording van de onderzoeksvragen en in Hoofdstuk 5 de conclusies en aanbevelingen worden gepresenteerd. Het rapport wordt afgesloten met Hoofdstuk 6 over de vertaalslag van deze onderzoeksresultaten naar het Nederlandse vergunningensysteem voor het ingeperkt gebruik.



## 2 Werkwijze

### 2.1 Aanpak van de onderzoeksvragen

In aanloop naar de beantwoording van de onderzoeksvragen van paragraaf 1.3 zijn een tweetal initiatieven (zie 2.2 en 2.3) ontplooid om een breed scala aan experts te benaderen om kennis uit te wisselen en informatie te verzamelen. Voor de daadwerkelijke aanpak van de onderzoeksvragen is een werkgroep bestaande uit Europese risicobeoordelaars geformeerd (zie 2.4).

### 2.2 Interview van Nederlands onderzoeksveld

Om de mogelijkheden van de gene drive technologie en de wenselijkheid ervan binnen het Nederlandse onderzoek te verkennen, zijn in het najaar van 2016 telefonische interviews gehouden met een aantal biologische veiligheidsfunctionarissen (BVFen), onderzoekers die gebruik maken van site-specifieke nucleases zoals CRISPR/Cas9 en hoofdonderzoekers van proefdierfaciliteiten in Nederland (potentiele gebruikers van deze technologie). De interviews richtten zich op de mogelijkheden die zij zagen voor de toepassing van de gene drive technologie in hun eigen onderzoeksveld.

### 2.3 Werkbijeenkomst van experts

Het RIVM organiseerde in januari 2017 een één-daagse werkbijeenkomst in Utrecht met risicobeoordelaars bekend met de methode voor ingeperkt gebruik uit een aantal Europese landen, BVFen en (binnen- en buitenlandse) wetenschappers op het gebied van CRISPR/Cas9 en gene drive technologie. Het doel was het verkennen van de mate van zorg over de gene drive technologie in de diverse Europese landen, en het inventariseren van de mogelijkheden en moeilijkheden om de risico's van organismen met een gene drive te kunnen beoordelen.

### 2.4 Werkgroep EU risicobeoordelaars

Op basis van deze werkbijeenkomst is een werkgroep, bestaande uit risicobeoordelaars uit Nederland, België, Duitsland en het Verenigd Koninkrijk, geformeerd die zich verder verdiept heeft in het uitwerken van een risicobeoordelingsmethode voor gene drive toepassingen, het opstellen van passende beheersmaatregelen en mogelijkheden van incidentmanagement. Hiermee zijn de drie onderzoeksvragen (zie 1.4) belegd.

Gezien de conclusie uit de werkbijeenkomst (zie 3.2) dat de risicobeoordelingsmethode volgens de Europese richtlijn 2009/41/EC<sup>1</sup> [7] aanknopingspunten biedt voor de beoordeling van organismen met een gene drive, is deze methode als uitgangspunt genomen.

<sup>1</sup> Indien in dit rapport 'de richtlijn' wordt genoemd, dan wordt daarmee de Europese Richtlijn 2009/41/EG inzake het ingeperkte gebruik van genetisch gemedificeerde micro-organismen bedoeld.

De resultaten van deze werkgroep zijn gepubliceerd in het wetenschappelijke tijdschrift *Applied Biosafety* [8] en vormen de basis voor Hoofdstuk 4.

### 3 Opbrengst uit interviews en werkbijeenkomst

#### 3.1 Verkenning Nederlands onderzoeksveld

Uit de interviews kwam unaniem naar voren dat er op dat moment (najaar 2016) geen directe belangstelling bestond om gene drive technologie in het onderzoek op te nemen. Ook toepassing van een gene drive in de ontwikkeling van diermodellen voor bijvoorbeeld biomedisch onderzoek (zgn. 'lab populaties') bleek niet aantrekkelijk, omdat de huidige transgenese technieken voldoen. De onderzoekers noemden dat het gebruik van een gene drive voor diermodellen juist nadelen zou opleveren omdat behalve de gewenste mutatie ook het endonuclease aanwezig is. Men gaf aan dat een gene drive in dieren enkel aantrekkelijk is om een natuurlijke populatie genetisch aan te passen.

Het RIVM concludeerde op grond van deze interviews dat er weinig belangstelling bestond om op korte termijn met de gene drive technologie in Nederland aan de slag te gaan. Eventuele vergunningaanvragen voor gene drive toepassingen zouden zeker niet talrijk worden.

In het najaar van 2017 heeft een BVF contact opgenomen met het RIVM omdat binnen zijn organisatie een onderzoeksgroep belangstelling had om de gene drive technologie toe te gaan passen. De procedure voor de aanvraag en de informatie die geleverd moet worden bij de aanvraag zijn besproken. Of een daadwerkelijke aanvraag volgt lijkt afhankelijk te zijn van honorering van het onderzoeksvoorstel (medio 2018).

#### 3.2 Europese werkbijeenkomst

Een aantal experts bevestigde de eerdere conclusie van het RIVM [1] dat de gene drive technologie op basis van de toenmalige werkwijze van de risicobeoordeling, op inperkingsniveau I ingeschaald kon worden waardoor activiteiten direct gestart zouden kunnen worden zonder dat de beoordeling getoetst was door de overheid. Een te lage inperking kan tot mogelijk (ernstige) risico's voor mens en milieu leiden in geval van een onbedoelde ontsnapping uit het laboratorium. Omdat een gene drive zich snel en blijvend in een populatie kan verspreiden, kan de verspreiding mogelijk ook over landsgrenzen heen gaan. In dat geval vonden de experts dat buurlanden geïnformeerd moesten worden op het moment dat zich een incident heeft voorgedaan met een mogelijk (ernstig) risico voor mens en milieu.

Zowel Duitsland als Engeland hadden reeds advies resp. guidance materiaal beschikbaar gemaakt om onderzoekers te informeren over het verhoogde verspreidingsrisico van ggo's met een gene drive. De Duitse adviescommissie heeft geadviseerd om werkzaamheden op minimaal inperkingsniveau II in te schalen. Op deze wijze komt de risicobeoordeling ook onder de aandacht van de Duitse overheid.

De wijze waarop toetsing van de risicobeoordeling door de overheid geregeld is, verschilt per EU land. Zo is de inschaling op niveau IV en beoordeling via een artikel 2.8 procedure een unieke procedure die

alleen Nederland kent. Nederland is het enige land dat voor de gene drive technologie een specifieke wettelijke regeling heeft getroffen.

Bij toepassing van de gene drive technologie is niet de pathogeniteit maar de verspreiding van het organisme met een gene drive vanuit het laboratorium naar het omliggende milieu het schadelijke effect dat beoordeeld moet worden. De experts bevestigden hiermee de eerdere conclusie van het RIVM dat pathogeniteit bij de gene drive technologie niet het enige relevante aspect is voor de risicobeoordeling en dat nog onvoldoende bekend is hoe schadelijke effecten ten gevolge van verspreiding beoordeeld kunnen en moeten worden.

Tevens concludeerden de experts dat in de richtlijn ook andere schadelijke effecten dan alleen pathogeniteit geformuleerd zijn en dat daarmee de risicobeoordelingsmethode volgens deze richtlijn een aanknopingspunt biedt om de gene drive technologie te beoordelen.

Tijdens de werkbijeenkomst zijn risicobeoordelingen voor een gene drive in resp. gist, muis en fruitvlieg besproken. Uit de plenaire discussie kwam naar voren dat er geen noodzaak was om de risicobeoordeling voor individuele groepen van organismen te ontwikkelen, omdat steeds dezelfde vragen relevant bleken: wat is de verspreidingsbiologie van het organisme en hoe is de genetische samenstelling van de gene drive. De drie genoemde organismen staan model voor organismen die interessant zijn om de gene drive technologie op toe te passen omdat ze als modelorganisme in het onderzoek worden gebruikt of omdat een toekomstige toepassing van een knaagdier of insect in het milieu kan worden verwacht (bv. de malariamug die geen parasiet meer kan overbrengen).

## 4 Uitwerking van de risicobeoordelingsmethode en het risicomanagement

### 4.1 Uitwerking van de risicobeoordelingsmethode

#### 4.1.1 *Onderzoeksvraag en aanpak*

Om maatregelen vast te kunnen stellen om een risico van een ggo verwaarloosbaar klein te houden voor mens en milieu, dient een risicobeoordeling uitgevoerd te worden. Dit gebeurt door het vooraf definiëren van de mogelijk schadelijke effecten van het ggo. Vervolgens wordt aan de hand van informatie over de ernst van de effecten en de waarschijnlijkheid dat ze kunnen optreden, het risico bepaald dat deze effecten optreden ten gevolge van het onbedoeld vrijkomen van het ggo vanuit het laboratorium in het milieu.

De uitkomst van een risicobeoordeling is een risicoklasse (in de Regeling ggo wordt van inperkingsniveau gesproken) op basis waarvan inperkingsmaatregelen vastgesteld kunnen worden die ertoe leiden dat het risico van het onbedoeld vrijkomen van het ggo uit het laboratorium verwaarloosbaar klein is.

#### **Onderzoeksvraag 1:**

Op welke wijze is er invulling te geven aan de methode van risicobeoordeling voor het ingeperkt gebruik van ggo's met een gene drive zodat toereikende maatregelen voor risicobeheersing vast te stellen zijn?

Voor het uitwerken van de methode van risicobeoordeling voor organismen met een gene drive is in de werkbijeenkomst vastgesteld dat de methode die in de richtlijn wordt voorgeschreven, aanknopingspunten biedt. Deze methode staat schematisch weergegeven in Bijlage 1 van dit rapport, en bestaat uit drie elementen: 1) identificatie van de mogelijk schadelijke effecten, 2) bepaling van de ernst en de waarschijnlijkheid en 3) bepaling van de risicoklasse. De wijze waarop deze ingevuld kan worden voor de gene drive technologie is door de werkgroep onderzocht en wordt onderstaand beschreven.

#### 4.1.2 *Invulling van de risicobeoordelingsmethode*

##### 4.1.2.1 Identificatie van mogelijk schadelijke effecten

De mogelijk schadelijke effecten die voor een ggo in de richtlijn genoemd zijn, staan weergegeven in bijgaande tekst box.

In geval van de gene drive technologie gaat het om een organisme dat genetisch gemodificeerd is met een gene drive (d.w.z. met een sequentie-specifiek endonuclease, zie 1.2). In plaats van 'ggo' wordt in deze tekst van 'gene drive organisme' (gdo) gesproken om te specificeren dat het hier om die groep van ggo's gaat.

### **Mogelijke schadelijke effecten van een ggo zoals geformuleerd in 2009/41/EG [7]:**

Als mogelijke schadelijke effecten moeten worden beschouwd

- ziekten bij de mens, met inbegrip van allergene of toxische effecten;
- ziekten bij dier of plant;
- schadelijke effecten als gevolg van de onmogelijkheid om een ziekte te behandelen of over een doeltreffende profylaxe te beschikken;
- schadelijke effecten als gevolg van *vestiging of verspreiding in het milieu*;
- schadelijke effecten als gevolg van de natuurlijke *overdracht van geïnsereerd genetisch materiaal naar andere organismen*.

Onderstreept zijn de schadelijke effecten die specifiek zijn voor een gdo. Deze kunnen tot uiting komen indien het gdo ten gevolge van een incident in het milieu terecht komt en verspreiding van de genetische eigenschap (de gene drive) in een natuurlijke populatie kan veroorzaken door vestiging of verspreiding.

Indien een gdo een pathogeen organisme betreft of indien de gene drive het ziekteverwekkend potentieel van het organisme wijzigt, dan dienen schadelijke effecten die hier betrekking op hebben ook meegenomen te worden in de risicobeoordeling. In dit rapport wordt de beoordeling van dergelijke effecten echter buiten beschouwing gelaten, omdat daar voor ggo's reeds ruime ervaring mee is.

#### 4.1.2.2 Bepaling van de ernst en waarschijnlijkheid

Na het vaststellen van de mogelijke schadelijke effecten van een gdo, wordt de ernst van deze effecten bepaald aan de hand van de karakteristieken van (1) het organisme en (2) de aangebrachte modificatie. Dit gebeurt door informatie te verzamelen over de biologische eigenschappen van het organisme die betrekking hebben op zijn verspreidingswijze. De informatie die nodig is over de aangebrachte modificatie betreft de (genetische) samenstelling van de gene drive en de mogelijke locatie(s) van het ingevoegde genetische materiaal in het genoom. Op basis van deze informatie wordt de ernst van de mogelijk schadelijke effecten van het resulterende gdo bepaald.

Naast bepaling van de ernst, wordt de waarschijnlijkheid dat een schadelijk effect kan optreden, bepaald. De waarschijnlijkheid wordt bepaald aan de hand van het beoordelen van de aard van de activiteiten in het laboratorium. Denk hierbij aan een specificatie van de werkzaamheden voor wat betreft kweekomstandigheden en schaalgrootte (bv. in geval van insecten aantallen, groepsgrootte). Het openen van een kweekbakje met niet-verdoofde, vliegende insecten levert bijvoorbeeld een grotere kans op ontsnapping van een insect dan wanneer deze eerst verdoofd worden.

De vragen naar informatie over de ernst en waarschijnlijkheid dat schadelijke effecten ten gevolge van een activiteit met een gdo kunnen optreden, zijn onderdeel van de huidige risicobeoordeling voor ggo's (zie Annex III van de richtlijn en Bijlage 8 van de Regeling ggo).

#### 4.1.2.3 Bepaling van de gdo risicoklasse

De afsluitende stap in de risicobeoordeling is het vaststellen van de risicoklasse voor de betreffende activiteit met het gdo.

Een risicoklasse maakt groepering van activiteiten van gdo's mogelijk die een overeenkomstig niveau van risico vormen en waarvoor een vergelijkbare set van inperkingsmaatregelen volstaat.

De risicoklassen die in de richtlijn worden voorgesteld, betreffen vier klassen op basis van pathogeniteit. Voor een gdo is deze indeling niet bruikbaar. De werkgroep heeft voor activiteiten met een gdo de volgende risicoklassen voorgesteld:

*gdo risicoklasse 1<sup>2</sup>*: activiteiten met een gdo leiden tot een verwaarloosbaar klein of laag risico voor mens en milieu. Een gdo dat tot deze klasse behoort is in feite een ggo waarbij de verspreiding van een gene drive niet mogelijk is. Denk hierbij aan een gdo dat in het omliggende milieu niet kan overleven.

*gdo risicoklasse 2*: activiteiten met een gdo hebben een gemiddeld risico. Hierbij moet gedacht worden aan een activiteit met een gdo dat geen permanent, maar een kortstondig schadelijk effect kan veroorzaken voor mens en milieu. Of indien de oorspronkelijke situatie hersteld kan worden door bijvoorbeeld het omliggende milieu met insecticiden te bespuiten. In geval van een kortstondig risico kan bijvoorbeeld gedacht worden aan een 'daisy gene drive' [9], waarbij slechts enkele generaties nakomelingen de gene drive zullen erven.

*gdo risicoklasse 3*: activiteiten met een gdo hebben een hoog risico. In dat geval bestaat de kans dat het gdo een permanent schadelijk effect kan veroorzaken door vestiging in het milieu en/of verspreiding van de gene drive aan nakomelingen.

Indien er sprake is van pathogeniteit van een gdo, dan dienen de schadelijke effecten ten gevolge van de pathogeniteit ook meegewogen te worden. In dat geval zullen in aanvulling op de gdo risicoklassen ook de risicoklassen ingericht voor pathogeniteit meegenomen moeten worden bij het vaststellen van de uitkomst van de risicobeoordeling. Voor het daaropvolgende vaststellen van het risicomanagement zullen de maatregelen uit een combinatie van maatregelen die uit de set van risicoklassen voortvloeien, van toepassing zijn.

## 4.2 Vaststelling van het risicomanagement

### 4.2.1 Onderzoeksvraag en aanpak

De uitkomst van de risicobeoordeling is een gdo risicoklasse die van toepassing is op de beoordeelde activiteit met het gdo. Aan de hand van de gdo risicoklasse wordt het risicomanagement vastgesteld: de set van inperkingsmaatregelen die nodig is om het risico van de activiteit met

<sup>2</sup> Indien er in dit rapport van 'risicoklasse' wordt gesproken, dan wordt de risicoklasse van een ggo bedoeld zoals is aangemerkt in de richtlijn en de regeling. Indien in dit rapport de risicoklasse van een gdo wordt bedoeld, dan staat er expliciet gdo risicoklasse.

het gdo verwaarloosbaar klein te houden. De tweede onderzoeksvraag betreft de vraag naar welke maatregelen hiervoor nodig zijn.

**Onderzoeksvraag 2:**

Welke inperkingsmaatregelen zijn er nodig om het risico op verspreiding van een organisme met een gene drive naar het milieu verwaarloosbaar klein te maken?

De richtlijn geeft risicoklassen aan voor activiteiten met pathogene micro-organismen en sets van maatregelen die op de schadelijke effecten van deze organismen zijn afgestemd. Deze maatregelen zijn minder geschikt voor organismen die niet pathogeen zijn en die geen micro-organismen betreffen. Dit betekent dat er onderzocht moet worden welke andere maatregelen mogelijk en nodig zijn om het risico van verspreiding van gdo's verwaarloosbaar klein te houden.

4.2.2 *Voorstel voor inperkingsmaatregelen*

Een gdo kan in principe elk zich geslachtelijk voortplantend organisme zijn. Uit de werkbijeenkomst en de wetenschappelijke literatuur blijkt dat schimmels (waaronder gist), insecten en knaagdieren de meest gangbare organismen zullen zijn om genetisch te modificeren met een gene drive. Van deze groepen van organismen is veel bekend over hun biologische karakteristieken en verspreidingspotentieel. Bovendien worden deze organismen regelmatig in een ggo risicobeoordeling voor ingeperkt gebruik beoordeeld. Omdat de biologie van deze groepen van organismen onderling sterk verschilt, is bij het bepalen van de inperkingsmaatregelen onderscheid gemaakt in maatregelen voor gist, insecten en knaagdieren.

Activiteiten met een gdo van risicoklasse 1 hebben per definitie een vergelijkbaar risico als activiteiten met een ggo van risicoklasse 1. Er zijn immers geen schadelijke effecten ten gevolge van een toegenomen verspreiding van het organisme of van zijn genetische eigenschap (de gene drive) vastgesteld. Voor gdo's van risicoklasse 1 zal daarom het inperkingsniveau 1 voor schimmels en dieren volgens Tabel IA resp. IC van de richtlijn afdoende zijn. In de Nederlandse regelgeving zijn deze inperkingsmaatregelen vastgelegd in Bijlage 9 van de Regeling, onder 9.1.1.1 (ML-I) voor schimmels en 9.1.4.1 (D-I) voor dieren.

Voor activiteiten met een gdo van risicoklasse 2 en 3 is er rekening houdend met de biologie van het organisme gekeken naar maatregelen die specifiek zijn om het organisme binnen het laboratorium te houden. Hierbij is gebruik gemaakt van maatregelen die beschreven worden in de richtlijn, de guidance voor inperkende maatregelen voor insecten [10] en de expertise van de werkgroep leden.

Analyse van deze maatregelen heeft geleid tot sets van minimale inperkingsmaatregelen die nodig zijn voor de verschillende groepen van organismen en de verschillende gdo risicoklassen. Deze maatregelen zijn samengevat in de tabel van Bijlage 2.

De maatregelen voor activiteiten van gdo risicoklasse 2 en 3 betreffen onder meer additionele fysische barrières tussen organisme en milieu, striktere regels voor toegang tot het laboratorium en een plan om



ontsnapping van een gdo te kunnen opmerken. Voor gdo risicoklasse 3 wordt de verplichting van een noodplan voorgesteld dat in werking kan treden in geval van een incident.

Na het vaststellen van de benodigde inperkingsmaatregelen aan de hand van de gdo risicoklasse van de betreffende activiteit, wordt de risicobeoordeling opnieuw uitgevoerd (iteratief proces). Dit om vast te stellen of de maatregelen inderdaad afdoende zijn om het risico van de activiteit met het gdo verwaarloosbaar klein te houden. Indien dit namelijk niet het geval blijkt, moeten de maatregelen worden bijgesteld. In geval van een activiteit met een pathogeen gdo zal het iteratief proces van belang zijn omdat de maatregelen behorend bij zowel de risicoklasse van het gdo als de risicoklasse van het pathogeen nodig zullen zijn om het risico op alle schadelijke effecten als verwaarloosbaar klein te kunnen beoordelen.

In Bijlage 3 zijn twee voorbeelden van een risicobeoordeling uitgewerkt aan de hand van gepubliceerde activiteiten met een gdo.

## 4.3 Incidentmanagement

### 4.3.1 *Onderzoeksvraag en aanpak*

Voor het geval dat een ggo ontsnapt uit het laboratorium en vrijkomt in het milieu is het vereist procedures beschikbaar te hebben voor de wijze van optreden en de te nemen maatregelen (zie artikel 13 van de richtlijn en artikel 9, tweede lid van de Regeling ggo). Hoewel incidentmanagement geen taak van de vergunningverlener is, is het RIVM gevraagd hier onderzoek naar te doen. De werkgroep heeft een korte inventarisatie van de mogelijkheden op basis van literatuur en eigen expertise uitgevoerd (zie 4.3.2).

#### **Onderzoeksvraag 3:**

Welke mogelijkheden zijn er voor incidentmanagement?

### 4.3.2 *Mogelijkheden voor incidentmanagement*

Er zijn verschillende maatregelen denkbaar die een schadelijk effect ten gevolge van het onbedoeld vrijkomen van een gdo uit het laboratorium kunnen beperken. Indien een insect het toegepaste organisme is, kan na een incident een extra introductie in het milieu van het wildtype organisme de verspreiding van het gdo in bepaalde gevallen beperken. Denk hierbij bijvoorbeeld aan de introductie van het wildtype organisme dat ten gevolge van de genetische variatie in de DNA-sequentie van de knipplaats, ongevoelig is voor het sequentie-specifieke endonuclease. Ook afdoding van het gdo door bijvoorbeeld spuiten met insecticide kan mogelijk zijn.

De werkvoorschriften (zie Bijlage 2) voor activiteiten met knaagdieren schrijven voor dat dieren geïdentificeerd moeten kunnen worden. Dit met het doel dat ze 'opgespoord' kunnen worden nadat een incident heeft plaats gevonden.

Esvelt *et al.* [11] beschrijft de mogelijkheid om een reverse gene drive te ontwikkelen: een tweede gdo dat het natuurlijke fenotype kan herstellen. Deze methode ligt echter niet voor de hand, omdat de

introductie van een ggo in het milieu om een toestemming op grond van de Richtlijn 2001/18/EG [12] vraagt. Deze zou dan gelijktijdig aangevraagd moeten worden met een toestemming voor de ingeperkt gebruik activiteit. Belangrijker is echter dat er dan vooraf duidelijkheid moet zijn over de effectiviteit dan deze reverse gene drive.

In geval van een activiteit van gdo risicoklasse 3, waarbij de uitkomst van de risicobeoordeling niet verwaarloosbaar klein zal zijn met het voorgestelde risicomanagement, kan de uitkomst zijn om de activiteit niet toe te staan. Een oplossing kan dan gevonden worden om eerst op grond van het wildtype organisme en de natuurlijke populatie meer informatie te verzamelen over het verspreidingspotentieel van het gdo. Of om werkzaamheden met een minder risicovol gdo uit te voeren door gebruik te maken van een ecologische of biologische inperking (bv een stam die niet buiten het laboratorium overleeft of het gebruik van een insertieplaats van de gene drive in het genoom dat uniek is voor een laboratoriumstam).

Tijdens het onderzoek van de werkgroep is opgemerkt dat transport een activiteit is waarbij ontsnapping zeer wel denkbaar is. Hoewel transport door andere wetgeving wordt geregeld, kan het wenselijk zijn er op te wijzen om een gdo van een risicoklasse 3 activiteit niet te vervoeren, en alleen het wildtype organisme en het DNA-construct ieder afzonderlijk te vervoeren.

## 5 Conclusies en aanbevelingen

### 5.1 Conclusies

Het onderzoek naar het invullen van een risicobeoordelingsmethode voor organismen met een gene drive, het kunnen vast stellen van inperkingsmaatregelen en de mogelijkheden van incidentmanagement, levert de volgende conclusies:

#### *Risicobeoordelingsmethode*

- Met de methode van de richtlijn is uitgebreid ervaring opgedaan voor het beoordelen van ggo's onder ingeperkt gebruik. De mogelijke schadelijke effecten van een gdo zijn echter anders dan die van de meeste ggo's waarmee deze ervaring is opgedaan. De algemene principes van de methode blijken echter goed toepasbaar op het beoordelen van een gdo.
- De resultaten van de werkgroep laten zien dat de mogelijke schadelijke effecten van een gdo ook in deze methode belegd zijn en beoordeeld kunnen worden aan de hand van de vragen die reeds gedefinieerd zijn om informatie te verzamelen over de ernst en waarschijnlijkheid dat een schadelijk effect van een ggo kan optreden.
- Voor organismen met een gene drive worden drie nieuwe gdo risicoklassen als uitkomst van de risicobeoordeling voorgesteld die zich onderscheiden in de mate van risico voor wat betreft verspreiding van het gdo en/of de genetische eigenschap.

#### *Risicomangement*

- Per groep van organismen (schimmels, insecten en knaagdieren) worden voor elke gdo risicoklasse minimale sets van maatregelen voorgesteld.
- Voor activiteiten met een gdo van risicoklasse 1 geldt dat het risico vergelijkbaar is met een activiteit met een ggo van risicoklasse c.q. inperkingsniveau 1 en zijn vergelijkbare inperkingsmaatregelen bruikbaar.
- Voor activiteiten met een gdo van risicoklasse 2 en 3 zijn er rekening houdend met de biologie van het organisme maatregelen opgesteld die specifiek zijn om het organisme binnen het laboratorium te houden. De tabel in Bijlage 2 geeft het overzicht van sets van minimale inperkingsmaatregelen die nodig zijn voor de verschillende groepen van organismen en de verschillende gdo risicoklassen.
- Het kan echter nodig zijn om een activiteit niet toe te staan indien de uitkomst van de risicobeoordeling en het voorgestelde risicomangement niet resulteert in een verwaarloosbaar klein risico.

#### *Incidentmanagement*

- Om bij incidenten adequaat te kunnen optreden worden er voor gdo risicoklasse 2 en 3 voorschriften voorgesteld, bv. identificatie van het gdo zodat tracering mogelijk is. Verder worden er verschillende vormen van incidentmanagement voorgesteld.

*Kennis en informatie*

- De kennis en informatie opgedaan via interviews met het Nederlandse onderzoeksveld en de werkbijeenkomst met internationale experts leverde op dat de werkgroep aan de slag kon gaan met het invullen van een risicobeoordelingsmethode op basis van de Europese richtlijn 2009/41/EG [7] en het ontwikkelen van risicomangement voor drie groepen van organismen.
- De eerder geïdentificeerde kennislacunes die het RIVM in 2015 rapporteerde [1] zijn voor wat betreft het adequaat kunnen uitvoeren van een risicobeoordeling en het voorstellen van geschikt risicomangement ingevuld. Wat blijft is kennisontwikkeling door ervaring op te doen met deze methode.
- Wetenschappelijk onderzoek levert nog steeds nieuwe kennis en informatie op over de gene drive technologie. Het blijft van belang dit onderzoek te volgen om ook nieuwe toepassingen adequaat te kunnen beoordelen en nieuwe informatie toe te kunnen passen in de risicobeoordeling.

**5.2 Aanbevelingen***5.2.1 Kennisontwikkeling en informatie verzameling*

In 2014 was het mogelijk hoge verspreidingsrisico voor gdo's aanleiding voor Amerikaanse onderzoekers om een alarmbel te luiden over de gene drive technologie nog voordat deze toegepast werd [13]. Bij onvoldoende gegevens over de exacte samenstelling en werking van een gene drive moet in de risicobeoordeling uitgegaan worden van dit hoge verspreidingsrisico (*worst case scenario*) en zal een gdo daarom in gdo risicoklasse 3 vallen.

In de afgelopen jaren is er veel onderzoek gestart naar de gene drive technologie. Fundamentele kennisontwikkeling vindt juist plaats onder ingeperkt gebruik en kan tijdens de technologie ontwikkeling een veranderend risicopotentieel laten zien. Zo is er inzicht gekomen over:

- de mogelijkheid om een gene drive op verschillende manieren te construeren waarbij het verspreidingspotentieel afneemt van 100% naar 0% (daisy gene drive [9], split gene drive [14]).
- het optreden van resistentie. In dit geval maakt het cellulaire herstelmechanisme fouten in de DNA-sequentie van de knipplaats waardoor deze niet meer herkend wordt door het sequentie-specifieke endonuclease van de gene drive. De gene drive kan hierdoor niet meer gekopieerd en overgedragen worden aan nakomelingen. De verspreiding van de gene drive dooft uit in de populatie [15].
- het bestaan van genetische variatie in de knipplaats voor het sequentie-specifieke endonuclease. Door deze genetische variatie zullen niet alle individuen in een populatie de gene drive kunnen kopiëren en doorgeven aan nagenoeg alle nakomelingen. De gene drive kan zich dus niet binnen een hele populatie verspreiden [16].

Op basis van meer informatie over het verspreidingspotentieel van de gene drive kan de risicobeoordeling leiden tot het preciezer vaststellen van een gdo risicoklasse en eventuele noodzakelijke aanvullende en/of

vervangende inperkingsmaatregelen behorend bij de activiteit. In plaats van een *worst case* scenario als uitgangspunt te moeten nemen, kan op basis van onderzoeksresultaten vastgesteld worden dat een lagere gdo risicoklasse, eventueel met aanvullende/vervangende inperkingsmaatregelen, passend is.

**Aanbeveling:**

*Het volgen van de ontwikkelingen op het gebied van de gene drive technologie door blijvend aansluiting te houden bij internationale netwerken, blijft van belang omdat het bijdraagt aan de kennis over de werking van gene drives en het adequaat kunnen uitvoeren van een risicobeoordeling.*

5.2.2

*Internationale discussie*

De bevindingen uit de RIVM werkbijeenkomst (2.3) en werkgroep (2.4) met betrekking tot de risicobeoordeling van een gdo activiteit maken duidelijk dat het wenselijk is om te komen tot een Europese overeenstemming over een uniforme risicobeoordeling en risicomangement. Immers, mocht een organisme met een gene drive in een te lage risicoklasse ingedeeld worden en onbedoeld uit een laboratorium ontsnappen, dan is vestiging in het milieu en verspreiding tot over de landsgrenzen mogelijk. In een situatie dat zich een incident heeft voorgedaan met een ernstig risico voor mens en milieu is het gepast, c.q. noodzakelijk, om buurlanden te informeren op het moment dat zich het incident heeft voorgedaan. In de richtlijn zijn hier aanwijzingen voor (bv. artikel 13 van de richtlijn). Op dit moment is het onduidelijk hoe andere lidstaten omgaan met het beoordelen van gdo's en of zij incidenten met gdo's als ernstig en vallend onder art. 13 zullen beoordelen.

**Aanbeveling:**

*Het voeren van een Europese discussie over een geharmoniseerde procedure voor de risicobeoordeling van activiteiten met gdo's voor ingeperkt gebruik is urgent, om te voorkomen dat deze activiteiten met onvoldoende inperkingsmaatregelen plaats vinden. Tevens zijn er afspraken nodig over de wijze waarop informatie uitgewisseld moet worden indien er een incident met een gdo plaats vindt dat ernstige gevolgen voor mens en milieu kan hebben.*



## 6 Aanbevelingen toegesneden op de Nederlandse vergunningverlening

### 6.1 Aanvraag tot een vergunning

Het inschalingsartikel 5.0 in Bijlage 5 van de Regeling ggo (zie ook 1.2) is een specifiek inschalingsartikel voor het inschalen van een activiteit met een gdo. In dit artikel wordt verwezen naar niveau IV voor een activiteit met een gdo. Om de juiste inperkingsmaatregelen vast te kunnen stellen kan op grond van een artikel 2.8 procedure een aanvraag worden gedaan. De 2.8 procedure wordt veelvuldig toegepast voor diverse ggo activiteiten die niet volgens bijlage 5 ingeschaald kunnen worden. Ook voor een gdo activiteit is dit een werkbare procedure.

Tot op heden zijn er geen aanvragen voor activiteiten met gdo's gedaan. Op het moment dat er een aantal aanvragen zijn gedaan en er ervaring is opgedaan met de indeling in gdo risicoklassen, kan overgegaan worden naar aanpassing van het inschalingsartikel. Hierbij kan gedacht worden aan verfijning van het inschalingsartikel op basis van de drie gdo risicoklassen. In dat geval zal er ook aansluiting gevonden moeten worden bij de categorieën van fysieke inperking (cfi's) van Bijlage 9 van de Regeling ggo (zie 6.3).

#### **Aanbeveling:**

*Het inschalingsartikel 5.0 kan van toepassing blijven en faciliteert een aanvraagprocedure voor gdo's op basis van artikel 2.8 van het Besluit ggo [5]. Op het moment dat er ervaring is opgedaan met de indeling in gdo risicoklassen kan overwogen worden het inschalingsartikel te herdefiniëren om bij deze gdo risicoklassen aan te sluiten.*

### 6.2 Risicobeoordeling van organismen met een gene drive volgens de methode van Bijlage 8

De resultaten van Hoofdstuk 4 geven invulling aan de wijze waarop een risicobeoordeling voor gdo's uitgevoerd kan worden. Deze risicobeoordelingsmethode is gebaseerd op Annex III van de richtlijn en is tevens neergelegd in Bijlage 8 van de Regeling ggo. Als een gebruiker een verzoek op basis van art. 2.8 wil doen, moet een risicobeoordeling uitgevoerd worden zoals aangegeven in Bijlage 8.

In Bijlage 8 wordt als uitkomst van de risicobeoordeling gesproken van inperkingsniveau in plaats van risicoklasse. Daarbij worden vuistregels gegeven die het vaststellen van het juiste inperkingsniveau en de bijbehorende cfi faciliteren. Een cfi is een vastgestelde set van inperkingsmaatregelen bestemd voor een activiteit met een ggo in een laboratorium, plantenkas, dierverslijf of procesinstallatie. Deze sets van maatregelen zijn opgenomen in Bijlage 9 van de Regeling ggo.

In Bijlage 8 ontbreekt een vuistregel om tot een risicoklasse (c.q. inperkingsniveau) voor een activiteit met een gdo te komen. Omdat er nog geen ervaring is opgedaan met het gebruik van de gdo risicoklassen, is het te vroeg om hierop de bijlage aan te passen. Wel is het

noodzakelijk de aanvrager te informeren over de toepassing van de gdo risicoklassen zoals die in dit rapport wordt voorgesteld. Het is een gebruikelijke werkwijze bij nieuwe ontwikkelingen op het vlak van genetische modificatie om informatie met betrekking tot de veiligheid van deze nieuwe ontwikkelingen via de website [ggo-vergunningverlening.nl](http://ggo-vergunningverlening.nl) aan te bieden of bij een informatie vraag met de aanvrager te delen.

### **Aanbeveling**

*Bijlage 8 helpt de gebruiker bij het uitvoeren van een adequate risicobeoordeling van gdo's. De gebruiker heeft daarbij een extra handreiking nodig over de wijze van toepassing van de drie gdo risicoklassen.*

## **6.3 Vaststelling van inperkingsmaatregelen volgens Bijlage 9**

Aan de hand van het inperkingsniveau en het bijbehorende cfi dat voortvloeit uit de risicobeoordeling, kan de aanvrager in Bijlage 9 nagaan welke inperkingsmaatregelen van toepassing zijn. Bijlage 9 noemt de verplichte inperkingsmaatregelen voor de cfi's voor activiteiten met ggo's in laboratoria, plantenkassen, diervverblijven en procesinstallaties.

De in dit rapport beschreven gdo risicoklassen voor gdo's en bijbehorende minimale sets van inperkingsmaatregelen sluiten niet geheel aan bij de cfi's ML-I, ML-II, ML-III, D-I, DM-II en DM-III. Zo zijn bijvoorbeeld voor DM-II en DM-III maatregelen voorgeschreven die betrekking hebben op het binnenhouden van micro-organismen en die niet relevant zijn voor een insect of knaagdier dat genetisch gemodificeerd is met een gene drive. Om de inperkingsmaatregelen toe te snijden op activiteiten met een gdo maakt de Regeling ggo het mogelijk middels artikel 2.21 (voor werkvoorschriften) en artikel 2.56 en 2.57 (voor inrichtingsvoorschriften) extra voorschriften op te leggen aan een aanvrager voor specifieke activiteiten naast de vastgestelde voorschriften op basis van de cfi's. Daarnaast bieden deze artikelen de mogelijkheid om alternatieve voorschriften op te leggen ter vervanging van de standaard voorschriften van de vastgestelde cfi's.

Door de mogelijkheid van maatwerk voor het voorschrijven van de benodigde inperkingsmaatregelen is er op dit moment geen noodzaak om nieuwe cfi's vast te stellen voor organismen met een gene drive (verhoogd verspreidingspotentieel). Daarbij zijn er nog geen aanvragen voor het toepassen van organismen met een gene drive in Nederland gedaan en zijn definitieve sets van inperkingsmaatregelen nog niet vastgesteld. Tevens moet in beschouwing genomen worden dat het om de toevoeging van 6 cfi's aan Bijlage 9 gaat. Namelijk in ieder geval voor 3 groepen van organismen (schimmels, knaagdieren, insecten) van zowel klasse 2 als 3. Hierbij wordt opgemerkt dat de cfi's voor risicoklasse 1 gelijk zullen zijn aan ML-I en D-I.

### **Aanbeveling:**

*De regelgeving maakt het mogelijk maatwerk te leveren bij het voorschrijven van de vereiste inperkingsmaatregelen. Het is daarom niet nodig Bijlage 9 aan te vullen met nieuwe cfi's dan wel sets van aanvullende en vervangende maatregelen.*



## 7 Referenties

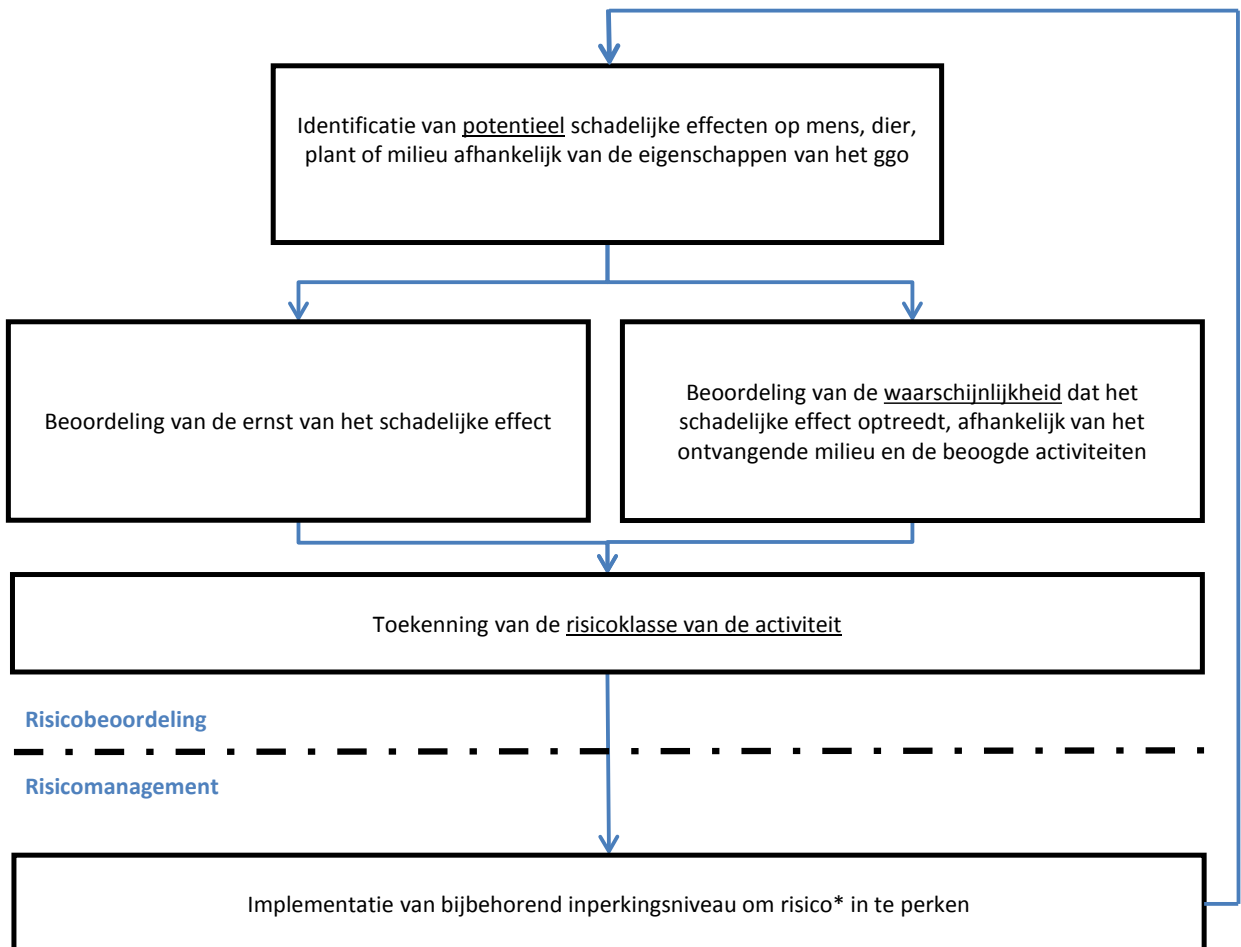
1. Westra J, Van der Vlugt CJB, Roesink CH, Hogervorst PAM, Glandorf DCM. Gene drives: Beleidssignalering. 2015. RIVM Briefrapport 2015-0196.
2. Akbari, OS et al. Safeguarding gene drive experiments in the laboratory. *Science*. 2015; 349: 927-929.
3. Beleidsnota Biotechnologie. 28 663. Milieubeleid. Nr. 326.  
<https://www.google.nl/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&ved=0ahUKEwi48PelysrYAhXCVSwKHcSuD3cQFggsMAE&url=https%3A%2F%2Fwww.tweedekamer.nl%2Fdownloads%2Fdocument%3Fid%3D88ed3145-bbe0-4c8f-bce2-ac0a171daaea%26title%3DBeleid%2520ten%2520behoeve%2520van%2520een%2520nieuwe%2520ontwikkeling%2520in%2520de%2520biotechnologie.pdf&usg=AOvVaw3FI61yX7F7JmJM2hBjsLH8>
4. Regeling genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.  
<http://wetten.overheid.nl/BWBR0035072/2018-01-01>.
5. Besluit genetisch gemodificeerde organismen milieubeheer 2013.  
<http://wetten.overheid.nl/BWBR0035090/2015-03-01>.
6. Krishnan P, Gillum D. Gene Drive 101: A Basic Guidance Resource for Biosafety Professionals. *Appl Biosaf*. 2017; 22: 181-184.
7. Richtlijn 2009/41/EG inzake het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde micro-organismen. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=uriserv:sa0015>
8. Van der Vlugt CJB, Brown DD, Lehmann K, Leunda A, Willemarck N. A Framework for the Risk Assessment and Management of Gene Drive Technology in Contained Use. 2018. *Appl. Biosaf*. 23: 25-31.
9. Noble C, Min J, Olejarz J et al. Daisy-chain gene drives for the alteration of local populations. *bioRxiv*. 2016; doi: 10.1101/057307.
10. Scott, TW. Containment of arthropod disease vectors. *ILAR Journal*. 2005; 46: 53-61.
11. Esvelt KM, Smidler AL, Catteruccia F, Church GM. Concerning RNA-guided gene drives for the alteration of wild populations. *Elife*. 2014; 3: e03401.
12. Richtlijn 2001/18/EG inzake de doelbewuste introductie van genetisch gemodificeerde organismen in het milieu. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=celex:32001L0018>.
13. Oye KA, Esvelt K, Appleton E, et al. Regulating gene drives. *Science*. 2014; 345: 626-628.

14. DiCarlo JE, Chavez A, Dietz SL, Esvelt KM, Church GM. Safeguarding CRISPR-Cas9 gene drives in yeast. *Nat Biotechnol.* 2015; 33: 1250–1255.
15. Champer J, Reeves R, Yeon Oh S, Liu C, Liu J, Clark AG, Messer PW. Novel CRISPR/Cas9 gene drive constructs reveal insights into mechanisms of resistance allele formation and drive efficiency in genetically diverse populations. *PLOS Genetics*, 2017: e1006796.
16. Drury DW, Dapper AL, Siniard DJ, Zentner GE, Wade MJ. CRISPR/Cas9 gene drives in genetically variable and nonrandomly mating wild populations. *Science Advances* 2017; 3: e1601910.
17. Hammond A, Galizi R, Kyrou K, et al. A CRISPR-Cas9 gene drive system targeting female reproduction in the malaria mosquito vector *Anopheles gambiae*. *Nat Biotechnol.* 2016; 4: 78-83.
18. World Health Organization (WHO). Geographical distribution of arthropod-borne diseases and their principal vectors. Geneva: World Health Organization. 1989; WHO/VBC/89.967: 7-22.
19. Min J, Noble C, Najjar D, Esvelt KM. Daisyfield gene drive systems harness repeated genomic elements as a generational clock to limit spread. *BioRxiv.* 2017; doi: 10.1101/104877.

## Bijlage 1 Risicobeoordelingsmethode van ggo's volgens de Richtlijn 2009/41/EG

In Figuur 1 zijn schematisch de verschillende stappen van de methode van risicobeoordeling van genetisch gemodificeerde organismen (ggo) weergegeven. De risicobeoordeling begint met het vaststellen van de mogelijk schadelijke effecten die ten gevolge van ontsnapping van het ggo uit de inperking kunnen optreden. De effecten die hierbij in beschouwing moeten worden genomen zijn die effecten die schadelijk kunnen zijn voor mens, dier, plant of milieu.

De ernst van een schadelijk effect wordt bepaald aan de hand van de karakteristieken van het organisme en de aangebrachte modificatie. De waarschijnlijkheid dat een schadelijk effect kan optreden, wordt bepaald door de aard van de activiteiten in het laboratorium en het ontvangende milieu. Beide stappen (de bepaling van ernst en waarschijnlijkheid) bepalen welke risicoklasse moet worden toegekend aan de activiteit met het specifieke ggo.



Figuur 1: Schematische weergave van de methode van risicobeoordeling van ggo's die onder ingeperkt gebruik toegepast worden.

Aan de hand van de risicoklasse (inperkingsniveau genoemd in de Regeling ggo) wordt het bijbehorende inperkingsniveau (categorie van fysieke inperking genoemd in de Regeling ggo) vastgesteld. Daarna wordt de risicobeoordeling opnieuw uitgevoerd om vast te stellen of de inperkingsmaatregelen inderdaad afdoende zijn om het risico van de activiteit met het ggo verwaarloosbaar klein te houden. Indien dit niet het geval is, worden de maatregelen bijgesteld. Het vaststellen van de juiste inperkingsmaatregelen vindt dus plaats via een iteratief proces.

Bijlage 2 Tabel met inperkingsmaatregelen die minimaal nodig zijn voor een ingeperkt gebruik activiteit van gdo risicoklasse 1, 2 of 3.

	<b>Minimale inperkingsmaatregelen</b>		
	<b>gdo risicoklasse 1</b>	<b>gdo risicoklasse 2</b>	<b>gdo risicoklasse 3</b>
Fysische maatregelen	Twee lagen van fysische inperking: (1) een organisme specifieke huisvesting (onbreekbaar) en (2) laboratorium ingericht met barrières om ontsnapping te voorkomen	Derde laag van fysische inperking die de organisme specifieke huisvesting omgeeft	
		Sluis met deuren die alleen na elkaar geopend kunnen worden	
Werkvoorschriften		Toegang tot alle faciliteiten waar gdo activiteiten uitgevoerd worden, zijn alleen bestemd voor opgeleid personeel en geïnstrueerd onderhoudspersoneel	Toegang tot alle faciliteiten waar gdo activiteiten uitgevoerd worden, is beperkt tot opgeleid personeel en onderhoudspersoneel onder begeleiding
		Monitoring plan beschikbaar om aanwezigheid van sequenties coderend voor de gene drive in het milieu te kunnen traceren in geval van een onbedoelde ontsnapping	
		Noodplan aanwezig voor het geval een onbedoelde ontsnapping plaats vindt	
<b>Aanvullende inperkende maatregelen – organisme specifiek</b>			
Voor activiteiten met gist en filamenteuze schimmels	Alle handelingen vinden plaats in een veiligheidskabinet van klasse II		Toegang via een sluis met negatieve luchtdruk t.o.v. de omgeving en luchtuitlaten zijn HEPA gefilterd

			De werkruimte is hermetisch af te sluiten met het oog op fumigatie
Voor activiteiten met insecten	Insectengordijn aan laboratoriumzijde van de deur.	Sluis met deuren die alleen na elkaar geopend kunnen worden	
	Insecten worden geïmmobiliseerd alvorens handelingen worden gedaan		Handelingen met geïmmobiliseerde insecten vinden plaats in een gesloten omgeving (bv. in een tent) binnen het laboratorium
			Er is een monitoringprogramma om de effectiviteit van ontsnappingsmaatregelen te bepalen
			Protocollen zijn geoefend met wildtype organismen voordat ze geïmplementeerd worden
			Alle handelingen met gdo's worden door een tweede getraind persoon geobserveerd om assistentie te kunnen verlenen en controle op navolgen van protocollen
Voor activiteiten met knaagdieren		Identificatie van dieren (bv. met oormerk of chip) is aanbevolen	Identificatie van dieren (bv. met oormerk of chip) is verplicht
			Camera of raam om huisvesting van dieren te kunnen zien zonder werkruimte te hoeven betreden

### Bijlage 3    Uitgewerkte voorbeelden van de risicobeoordeling van activiteiten met een gdo

Onderstaande voorbeelden betreffen de risicobeoordeling van in de wetenschappelijke literatuur beschreven activiteiten met gdo's, volgens de methode beschreven in H4 van dit rapport.

#### **Voorbeeld 1**

*Karakteristieken van het gdo: Anopheles gambiae* (mug) wordt genetisch gemodificeerd met een gene drive die bestaat uit de coderende sequenties voor het Cas9 endonuclease en het guide RNA. Deze sequenties worden omgeven door sequenties die homoloog zijn aan de genomische sequentie die codeert voor een gen dat de vrouwelijke vruchtbaarheid reguleert [17]. Het endonuclease heeft zijn knipplaats in dit gen. Indien dit gen onderbroken wordt door de gene drive dan zijn de vrouwtjes onvruchtbaar. Het gdo wordt in een laboratorium in Londen gehuisvest, opgekweekt en gebruikt voor onderzoek waarbij levende muggen gehanteerd worden. Deze muggensoort komt in Afrika voor en is niet endemisch in Europa en Noord-Amerika [18].

*Risicobeoordeling:* Gepubliceerde onderzoeksresultaten [17] laten zien dat deze gene drive in 91,4 tot 99,6% van de nakomelingen overgedragen wordt en dat er daarom een groot risico is dat een gevoelige muggenpopulatie onderdrukt wordt. De **ernst** van de mogelijk schadelijk effecten is dus **hoog**.

De activiteiten die in het lab plaats vinden betreffen open handelingen met het gdo. De waarschijnlijkheid dat kleine vliegende insecten tijdens deze handelingen kunnen ontsnappen is hoog. Het laboratorium is echter gelegen in een klimaatzone waar geen natuurlijke populatie van deze muggensoort aanwezig is en waar deze muggensoort ook niet kan overleven (een zgn. ecologische inperking). De **waarschijnlijkheid** dat een schadelijk effect voor wat betreft de verspreiding van de gene drive zich kan voordoen is daardoor **verwaarloosbaar**.

De combinatie van deze mate van ernst en waarschijnlijkheid leidt mede aan de hand van de definities van de gdo risicoklassen, tot een gdo risicoklasse 1 voor deze activiteit.

*Risico management:* Aan de hand van gdo risicoklasse 1 kan in de Tabel van Bijlage 2 de minimale set van inperkingsmaatregelen geselecteerd worden voor deze activiteit. Deze maatregelen zijn overeenkomstig de maatregelen die voor genetisch gemodificeerde, vliegende insecten worden voorgeschreven volgens de Regeling ggo [4] en de ACL-2 voorschriften [10].

Het zal duidelijk zijn dat als de ecologische inperking niet bestond, dat de activiteit als gdo risicoklasse 3 beschouwd zou moeten worden vanwege de hoge mate van ernst en waarschijnlijkheid dat de schadelijke effecten kunnen optreden in een aanwezige populatie.

## Voorbeeld 2

*Karakteristieken van het gdo:* Muizen (*M. musculus*) worden gemodificeerd met een 'daisy drive'. Een dergelijke gene drive bestaat uit meerdere elementen die een voor een verloren raken in de volgende generatie. Na een zeker aantal generaties is de gene drive niet meer functioneel [19].

Handelingen met dit gdo betreffen huisvesting, fok en het nemen van bloedmonsters. Deze muizen betreffen een wilde soort met een natuurlijke habitat buiten het laboratorium en kunnen paren met in het milieu voorkomende muizen.

*Risico beoordeling:* Om de ernst van de schadelijke effecten ten gevolge van een verspreiding van de gene drive te kunnen vaststellen, speelt de overleving van het gdo in het milieu en de moleculaire constructie van de gene drive (daisy drive) een rol. Omdat het percentage nakomelingen dat de gene drive zal ontvangen met elke generatie kleiner wordt is een permanente vestiging van het gdo in het milieu onwaarschijnlijk. Daarom wordt de **ernst** bepaald als **gemiddeld**. De waarschijnlijkheid dat muizen uit het laboratorium kunnen ontsnappen is mogelijk, maar niet hoog zoals in eerste instantie bepaald was voor de muggen uit bovenstaand voorbeeld. Muizen zijn beter zichtbaar en individuen kunnen makkelijker gevangen worden. Bovendien worden open handelingen maar met een beperkt aantal muizen tegelijk gedaan. De **waarschijnlijkheid** dat een schadelijk effect zich kan voordoen wordt daarmee bepaald op **gemiddeld**. Combinatie van deze mate van ernst en waarschijnlijkheid leidt mede aan de hand van de definities van de gdo risicoklassen, tot gdo risicoklasse 2 voor deze activiteit.

*Risico management:* Aan de hand van Tabel 2 (Bijlage 2) worden voor deze activiteit inperkingsmaatregelen voorgesteld die bestaan uit een extra laag van fysieke inperking, beperkte toegang tot het laboratorium, een monitoring plan en identificatie van individuele dieren. Deze maatregelen gelden bovenop de maatregelen die voor gdo risicoklasse 1 worden voorgesteld.





**RIVM**

*De zorg voor morgen begint vandaag*