

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

**A. Información de carácter general:**

**1. Detalles de la notificación**

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/24/05
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	13/3/2024
d) Título del proyecto:	Ensayo clínico multicéntrico de fase I/II, abierto, de NECVAX-NEO1 en adición a una terapia de anticuerpos monoclonales anti-. PD-1 o anti-PD-L1 en pacientes con tumores sólidos.
e) Período propuesto para la liberación:	Septiembre 2024 - Septiembre 2026

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	NEC Bio therapeutics GmbH (anteriormente NEC OncoImmunity AS)
-------------------------------------	---

**3. Definición del OMG**

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input type="checkbox"/>
	Bacteria	<input checked="" type="checkbox"/>
	Hongo	<input type="checkbox"/>
	Animal	<input type="checkbox"/>
	- mamíferos	<input type="checkbox"/>
	- insectos	<input type="checkbox"/>
	- peces	<input type="checkbox"/>
	- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	Proteobacteria, Gammaproteobacteria	

<p>b) Identidad del OMG (género y especie)</p> <p><i>Salmonella enterica</i> subsp. Entérica; Serovar Typhi Cepa Ty21a</p>
<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p>Para el organismo parental <i>Salmonella</i> Typhi cepa Ty21a se demostró que las mutaciones genéticas que determinan la atenuación se mantuvieron estables durante los últimos 25 años de fabricación de la vacuna contra la fiebre tifoidea Typhoral®/Vivotif®. Hasta el momento no se ha informado de una reversión de la cepa Ty21a de <i>Salmonella</i> Typhi al tipo salvaje. La presencia de las mismas mutaciones atenuantes en el OMG se confirmó mediante la secuenciación del genoma bacteriano del Banco Celular Maestro del medicamento en investigación NECVAX-NEO1. Se concluye que las mutaciones genéticas que atenúan el OMG son genéticamente estables. La estabilidad genética de las modificaciones genéticas, es decir, la presencia del plásmido de expresión en el OMG, se confirma para cada lote del OMG en las pruebas de liberación determinando la presencia del marcador selectivo.</p>

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: DE, LT	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación: LT	
- Número de la notificación: No se dispone de número de notificación.	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	
- Número de la notificación:	

## 7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

El OMG NECVAX-NEO1 es una bacteria transformada (una cepa atenuada de *Salmonella* enterica serovar Typhi cepa Ty21a) que porta múltiples copias de un ADN plasmídico que codifica antígenos tumorales específicos del paciente identificados mediante secuenciación NGS del tumor del paciente. La cepa del organismo parental se derivó de una vacuna oral viva autorizada contra la fiebre tifoidea. Durante el estudio clínico, se administrarán por vía oral dosis bajas (en comparación con la dosis aprobada de la vacuna contra la fiebre tifoidea Typhoral L®) del OMG a pacientes que padecen tumores sólidos.

El impacto global sobre el medio ambiente de la liberación de NECVAX-NEO1 dentro del estudio planificado se considera bajo. Se han definido criterios de exclusión apropiados para los pacientes para minimizar el riesgo para los pacientes. Se han tomado medidas adecuadas para minimizar la propagación del OMG al medio ambiente o su transmisión a terceros. Se han establecido procedimientos estrictos para evitar la liberación del OMG en el sitio clínico desde su preparación hasta la administración del OMG. Además, se implementan medidas higiénicas para evitar la transmisión del OMG a terceros. El organismo parental se utiliza desde hace décadas como vacuna bacteriana viva aprobada contra la fiebre tifoidea. Su perfil de seguridad está muy bien documentado y no se puede prever ningún impacto sobre el medio ambiente. El organismo parental no puede sobrevivir en el entorno natural. En ausencia de selección de antibióticos, la modificación genética no confiere ninguna ventaja de supervivencia al OMG en comparación con el organismo parental. La bacteria altamente atenuada no puede proliferar ni sobrevivir en el medio ambiente.

### B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

#### 1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

- |               |                                     |
|---------------|-------------------------------------|
| Viroide       | <input type="checkbox"/>            |
| Virus ARN     | <input type="checkbox"/>            |
| Virus ADN     | <input type="checkbox"/>            |
| Bacteria      | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Hongo         | <input type="checkbox"/>            |
| Animal        | <input type="checkbox"/>            |
| - mamíferos   | <input type="checkbox"/>            |
| - insectos    | <input type="checkbox"/>            |
| - peces       | <input type="checkbox"/>            |
| - otro animal | <input type="checkbox"/>            |

(especifique el phylum y la clase) Proteobacteria,  
Gammaproteobacteria

Otros, (especifíquense):

## 2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Bacteria/Enterobacteria
ii) Género: <i>Salmonella</i>
iii) Especie: <i>enterica</i>
iv) Subespecie: <i>enterica</i>
v) Cepa: Ty21a
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): Serovar Typhi
vii) Nombre vulgar: <i>S. Typhi</i> Ty21a

## 3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él: Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos: i) Sí <input type="checkbox"/> En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra: Atlántico <input type="checkbox"/> Mediterráneo <input type="checkbox"/> Boreal <input type="checkbox"/> Alpino <input type="checkbox"/> Continental <input type="checkbox"/> Macaronésico <input type="checkbox"/> ii) No <input checked="" type="checkbox"/> iii) No se sabe <input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense): La vacuna autorizada contra la fiebre tifoidea (Vivotif®, Typhoral®) no existe en el ecosistema natural	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: N/A	

5. a) Técnicas de detección

El organismo parental puede ser detectado mediante cultivo en medio selectivo para el crecimiento de <i>Salmonellae</i> .
---

5. b) Técnicas de identificación

Los métodos de identificación emplean las características bioquímicas específicas del organismo parental atenuado de acuerdo con la monografía de la Farmacopea Europea <1055> Vacuna contra la fiebre tifoidea (viva, oral, cepa Ty21a). La cepa Ty21a no produce sulfuro de hidrógeno en agar hierro Kligler. Cuando se cultiva en un medio agar que contiene 1% de galactosa y azul de bromotimol, se forman colonias de color azul claro, cóncavas y transparentes. Una identificación adicional se logra mediante pruebas serológicas utilizando antisueros específicos para los antígenos O5 y O9 de acuerdo con la Farmacopea Europea. <1055>.
---

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: Debido a su atenuación, <i>S. Typhi</i> Ty21a tiene una viabilidad muy limitada en los ecosistemas naturales. No se dispone de otra información sobre el tiempo de generación en ningún otro ecosistema natural.	
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: Debido a su atenuación, <i>S. Typhi</i> Ty21a tiene una viabilidad muy limitada en los ecosistemas naturales. No se dispone de otra información sobre el tiempo de generación en ningún otro ecosistema natural.	
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: Para el crecimiento de <i>S. Typhi</i> Ty21a se requieren medios de cultivo adecuados como se indica en Ph. Eur. <1055>. La proliferación depende de las condiciones de cultivo, como la composición del medio de cultivo, la temperatura, el pH y el contenido de oxígeno. Se ha demostrado en diferentes estudios que la cepa Ty21a es altamente susceptible a diversos estreses ambientales, como temperatura elevada, soluciones con alta osmolalidad, pH ácido o alcalino, soluciones con peróxidos o inanición.	

## 9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

- i) endosporas
- ii) quistes
- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos
- vii) pupas
- viii) larvas
- ix) otras (especifíquense) Ninguna

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Debido a su atenuación, *S. Typhi* T21a es muy sensible a condiciones ambientales desfavorables. Los factores relevantes son la temperatura, el pH y los nutrientes específicos del medio. Se ha demostrado en diferentes estudios que la cepa Ty21a es altamente susceptible a diversos estreses ambientales, como temperatura elevada, soluciones con alta osmolalidad, pH ácido o alcalino, soluciones con peróxidos o inanición. Se demostró que la cepa no podía sobrevivir en los tejidos, la sangre o las heces humanas. Se cree que la sensibilidad de la cepa a condiciones ambientales adversas se debe a múltiples mutaciones atenuantes, sobre todo el gen *ropS*, que afectan a una variedad de elementos metabólicos y estructurales.

## 10. a) Vías de diseminación

La diseminación de *Salmonella Typhi*, cepa Ty21a, se ha investigado en el pasado para su uso como vacuna contra la fiebre tifoidea. Dado que *Salmonella Typhi* Cepa Ty21a se administra por vía oral en forma viable, se llevaron a cabo estudios para determinar la frecuencia y el nivel con el que se excreta en las heces. Los ensayos clínicos han demostrado un nivel limitado y transitorio de eliminación o una ausencia total de eliminación en las heces de los voluntarios, dependiendo de la dosis administrada de la vacuna. Con una dosis de entre  $3 \times 10^{10}$  a  $10 \times 10^{10}$  UFC (diez veces mayor que las formulaciones comerciales de Vivotif®) se observó una baja tasa de excreción, principalmente el primer día después de la vacunación. Los organismos vacunales sólo pudieron aislarse de las heces de los sujetos vacunados el primer día después de la vacunación.

## 10. b) Factores que afectan a la diseminación

La eliminación parece depender de la dosis ingerida. Se ha observado eliminación de *S. Typhi* Ty21a a una dosis de  $> 10^9$  UFC

**11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)**

El anterior notificador inicial, VAXIMM GmbH, ha realizado cuatro estudios clínicos con el organismo receptor genéticamente modificado *S. Typhi* Ty21a. En estos estudios, el OMG (VXM01) consistía en *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhi cepa Ty21a transfectada con un ADN plásmido que porta un casete de expresión eucariota que codifica el gen del receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular humano (VEGF).

Números de notificación:

B/NL/19/003

B/DE/11/PEI1393

B/DE/16/PEI/2516

B/DE/15/PEI/2509

Hasta donde sabe el notificante, en el pasado no se han realizado notificaciones de liberación de ninguna modificación genética del organismo parental *Salmonella* Typhi cepa Ty21a.

Se han notificado dos liberaciones de *Salmonella* Typhi cepa Ty2 (no Ty21a) genéticamente modificada:

B/BG/03/R35/02

B/GB/10/R40/01

Dos ensayos clínicos realizados en Alemania evaluaron *Salmonella* Typhi Ty21a como portador de antígenos de *Helicobacter pylori*. En estos ensayos, se administraron por vía oral formulaciones experimentales de una cepa Ty21a que expresa las subunidades A y B de ureasa de *H. pylori* después de mezclar cultivos recién cosechados o alícuotas congeladas con tampón de bicarbonato. En ambos estudios se descubrió que la cepa era segura e inmunogénica.

### C. Información sobre la modificación genética

#### 1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) Eliminación de material genético	<input type="checkbox"/>
iii) Sustitución de una base	<input type="checkbox"/>
iv) Fusión celular	<input type="checkbox"/>
v) Otro (especifíquese)	

#### 2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Se supone que NECVAX-NEO1 ejerce su actividad utilizando la cepa atenuada de *Salmonella* Typhi Ty21a como portador para administrar el plásmido a las células presentadoras de antígeno intestinal de pacientes con cáncer. El objetivo es provocar una respuesta inmune dependiente de células T contra antígenos mutados específicos del paciente y del tumor. La serie de eventos que conducen a la actividad biológica de NECVAX-NEO1 se puede resumir brevemente de la siguiente manera: Las bacterias de *Salmonella* administradas por vía oral que llevan el plásmido de expresión que codifica los antígenos tumorales ingresan al huésped a través de las células M en el intestino. Después de la transcitosis, las bacterias son fagocitadas por células fagocíticas como los macrófagos y las células dendríticas. Los plásmidos de expresión se liberan y son seguidamente transferidos al citosol a través de un sistema de transporte específico o por fuga endosómica. El plásmido de expresión trasloca al núcleo y se transcribe, lo que lleva a la expresión del antígeno en el citosol de la célula huésped. Los macrófagos infectados entran en apoptosis y son captados por células dendríticas espectadoras que presentan antígenos del material apoptótico vía MHC-I. Estas células presentadoras de antígeno activadas inducen células T CD8<sup>+</sup> citotóxicas específicas de antígeno que posteriormente atacan a las células tumorales que expresan los antígenos tumorales.

#### 3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

#### 3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: pNECVAX-NEO1	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Bacteria (capaz de multiplicar el plásmido mediante control del origen de replicación)	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Kanamicina	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
El vector de expresión utilizado NECVAX-NEO1 codifica un péptido poliepítipo que consiste en neoepítipos específicos del tumor del paciente con cáncer.	
El vector contiene:	
<ul style="list-style-type: none"><li>• El promotor del citomegalovirus humano (immediate-early CMV promoter).</li><li>• La señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina (BGH).</li><li>• Un gen de resistencia a Kanamicina.</li><li>• Un origen de replicación derivado del plásmido pBR322.</li></ul>	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input checked="" type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense)	

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>El inserto consta de una secuencia de ADN que codifica un péptido poliepítipo que consta de neoepítipos específicos de tumores que han sido identificados mediante secuenciación NGS de biopsias de tumores. El inserto se clona a continuación del promotor temprano inmediato (CMV) del citomegalovirus humano y es seguido por la señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento bovino (BGH). Para un procesamiento óptimo de la secuencia del poliepítipo, el ADN complementario de la ubiquitina humana se clona precediendo al inserto.</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>Las secuencias de los neoepítipos específicos de tumores personalizados se derivan de la secuenciación de biopsias de tumores, la identificación de mutaciones específicas de tumores y la selección y clasificación de epítipos inmunogénicos mediante algoritmos computacionales. Las secuencias de epítipos identificadas se ensamblan luego en la secuencia del inserto completo. Los plásmidos de expresión utilizados para la fabricación de NECVAX-NEO1 se producen mediante síntesis química. La secuencia de ubiquitina humana se tomó de bases de datos públicas.</p>
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>El inserto, es decir, el casete de expresión que codifica los neoepítipos específicos del tumor, es silencioso (sin transcripción/traducción) dentro de los OMG, ya que el promotor del CMV ejerce su función sólo en células de mamíferos. La secuencia de inserción se expresa cuando el plásmido ingresa en las células presentadoras de antígenos en el tracto intestinal del paciente tras la administración oral del OMG (ver C.2). La secuencia de ubiquitina unida a la secuencia del poliepítipo proporciona un procesamiento óptimo de los epítipos antigénicos.</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <p>- en un plásmido libre <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/></p> <p>- Otros especifíquense):</p>

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí  No

En caso afirmativo , especifíquese:

**D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)**

**1. Indíquese si es:**

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase): Cordados, Mamíferos
Otros ( especifíquense)	

**2. Nombre completo**

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>sapiens</i>
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: humano

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

### E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?

Sí                       No                       No se sabe

Especifíquese:

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?

Sí                       No                       No se sabe

Especifíquese:

**2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente**

Como se indica en la Sección A.3.c, la estabilidad genética del organismo parental *Salmonella* Typhi, cepa Ty21a, se ha demostrado durante los últimos 25 años de fabricación de la vacuna contra la fiebre tifoidea Typhoral®/Vivotif®. La estabilidad genética de la modificación genética, es decir, la presencia del plásmido de expresión en el OMG, se confirma para cada lote del OMG en las pruebas de liberación determinando la presencia del marcador selectivo.

**3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?**

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		

**4. Descripción de los métodos de identificación y detección**

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

El OMG puede detectarse mediante cultivo en medios selectivos para el crecimiento de *Salmonellae*. Además, se puede utilizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) aplicando cebadores específicos para secuencias del plásmido de expresión para detectar la presencia de dicho plásmido de expresión.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Los métodos de identificación de la bacteria portadora, *Salmonella* Typhi, cepa Ty21a, emplean las características bioquímicas específicas del organismo parental atenuado de acuerdo con la monografía de la Farmacopea Europea <1055> Vacuna contra la fiebre tifoidea (viva, oral, cepa Ty21a). La cepa Ty21a no produce sulfuro de hidrógeno en agar hierro Kligler. Cuando se cultiva en un medio agar que contiene 1% de galactosa y azul de bromotimol, se forman colonias de color azul claro, cóncavas y transparentes. Adicionalmente puede identificarse mediante pruebas serológicas utilizando antisueros específicos para los antígenos O5 y O9 de acuerdo con Ph. Eur. <1055>. El plásmido de expresión se identifica mediante análisis de restricción utilizando enzimas de restricción apropiadas para pruebas de liberación. Además, el plásmido de expresión se puede identificar mediante PCR utilizando pares de cebadores específicos para secuencias localizadas en dicho plásmido, así como secuenciación de nucleótidos.

## F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

La empresa tiene intención de realizar un estudio clínico para evaluar la seguridad y eficacia del OMG en combinación con anticuerpos monoclonales anti-PD1 o anti-PD-L1 en pacientes con tumores sólidos. El fundamento de este estudio es la suposición de que el OMG, en combinación con los anticuerpos anti-PD1/PD-L1, inducirá una respuesta inmune contra los antígenos tumorales codificados por el plásmido de expresión que puede conducir a una eficaz respuesta antitumoral en los pacientes.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

- a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

La liberación se llevará a cabo en 4 hospitales de España:

- Hospital Fundación Jiménez Díaz, Avda. Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid, España.
- Hospital Universitari Vall d'Hebron, Pg. de la Vall d'Hebron, 119, Horta-Guinardó, 08035 Barcelona, España.
- Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS), Rúa da Choupana, s/n, 15706 Santiago de Compostela, España.
- Institut Català d'Oncologia, Avinguda de la Granvia de l'Hospitalet, 199, 08908 L'Hospitalet de Llobregat, España.

<p>b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):</p> <p>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>):</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>):</p> <p>No se requiere un tamaño de sitio específico para la liberación. La liberación del OMG se llevará a cabo en un hospital o sala de examen clínico designado dentro de cada una de las instituciones clínicas designadas. No se espera una liberación más amplia.</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No se aplica.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>No se aplica.</p>

#### 4. Método y amplitud de la liberación

<p>a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>Se administrará por vía oral una dosis acumulada de no más de <math>1.8 \times 10^{10}</math> UFC del OMG a 20 pacientes del estudio, suponiendo que todos los pacientes reciban tratamiento durante la duración máxima del estudio.</p>
<p>b. Duración de la operación:</p> <p>El ensayo completo, incluido el seguimiento, durará aproximadamente 2 años (fase de reclutamiento de aproximadamente 12 meses, fase de tratamiento de hasta 6 meses). La liberación se produce desde el inicio del reclutamiento hasta el final del tratamiento. Por tanto, la duración de la liberación será de aproximadamente 24 meses.</p>
<p>c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:</p> <p>La manipulación del OMG será realizada únicamente por profesionales sanitarios cualificados. Todo el personal del estudio, los cuidadores y los pacientes involucrados recibirán capacitación sobre las medidas de precaución higiénicas para evitar la propagación del OMG según lo estipulado en el protocolo del estudio y los procedimientos del estudio específicos del centro sanitario. Todas las superficies potencialmente contaminadas con OMG se desinfectarán cuidadosamente de acuerdo con los procedimientos locales documentados utilizando desinfectantes aprobados localmente. Todos los materiales de desecho serán destruidos de acuerdo con la legislación nacional y los procedimientos de los centros hospitalarios, como residuos con riesgo biológico.</p>

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

Todas las administraciones de OMG deben realizarse en salas clínicas o de hospitales convencionales en las instituciones clínicas mencionadas anteriormente.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG, si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

El OMG NECVAX-NEO1 se ha liberado anteriormente durante el estudio con código 2021-000607-20.

Así mismo, el OMG relacionado VXM01 se liberó en el pasado durante los cuatro estudios clínicos. No se pudo discernir ningún impacto de la liberación sobre el medio ambiente o la salud humana. Según los datos de seguridad disponibles de todos los estudios, se puede concluir que el perfil de seguridad y tolerabilidad de VXM01 fue aceptable. No se hicieron evidentes toxicidades inesperadas. En algunos pacientes se detectó eliminación fecal transitoria de bacterias viables después de la administración de VXM01.

**G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental**

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>sapiens</i>
v) Subespecies:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/Línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Humano

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

El mecanismo de acción previsto del OMG se presenta en la Sección C.2. Brevemente, las bacterias de *Salmonella* administradas por vía oral que llevan el plásmido de expresión ingresan al huésped a través de células M en el intestino. Las bacterias son absorbidas por células fagocíticas como macrófagos y células dendríticas y el antígeno diana se expresa tras de la liberación del plásmido de expresión en el citosol. Los fragmentos de antígeno son presentados y se inducen CD8<sup>+</sup> citotóxicos específicos que posteriormente se dirigen a las células tumorales que expresan los antígenos codificados en el plásmido.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

Potencialmente, el plásmido de expresión que porta la bacteria podría transferirse a otras bacterias presentes en el tracto intestinal de los pacientes tratados o integrarse en el genoma de las células huésped. Según un análisis de riesgos, la probabilidad de que se produzcan tales acontecimientos se considera baja o insignificante.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
----	--	------------

Especifíquese:

Los estudios de supervivencia demostraron que el OMG VXM01 no prolifera ni sobrevive en el medio ambiente. La alteración genética (es decir, la transfección con el plásmido de expresión) no confiere ninguna ventaja de supervivencia al OMG en comparación con otras bacterias en el entorno natural. Como NECVAX-NEO1 se diferencia únicamente de VXM01 en el inserto que contiene el plásmido, no se espera tampoco que el OMG tenga ventaja en la supervivencia en comparación con otras bacterias.

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

Debido al contexto de la liberación de OMG propuesta, donde el OMG se administra a sujetos en un hospital cerrado o en una sala de examen clínico, es poco probable que el OMG entre en contacto con organismos no objetivo en el ecosistema. Si el OMG se disemina después de su eliminación fecal en el sistema de alcantarillado, se excluye la persistencia del OMG en otros ecosistemas, ya que el OMG, debido a su atenuación, no puede sobrevivir en ambientes naturales.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar:

**7. Probabilidad de intercambio genético en vivo**

<p>a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:</p> <p>Hasta ahora nunca se han observado eventos de transferencia genética del plásmido de VXM01 a otras bacterias en el tracto intestinal de pacientes en muestras de heces tomadas de pacientes en los estudios clínicos realizados. VXM01 consta de la misma bacteria portadora que NECVAX-NEO1. El esqueleto de los vectores de expresión es la misma en cada uno de los OMG. Basándose en los datos actuales se concluye que tales eventos son raros.</p>
<p>b) De otros organismos al OMG:</p> <p>Se estima que la probabilidad es insignificante.</p>
<p>c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:</p> <p>En el improbable caso de un evento de transferencia genética, las bacterias receptoras adquirirían resistencia al antibiótico kanamicina, pero no se observaría ningún otro beneficio de supervivencia en ausencia de kanamicina. Los antibióticos alternativos seguirán siendo eficaces. Por tanto, el riesgo se califica como bajo. El antígeno diana codificado por el plásmido de expresión no se expresa en bacterias ya que el promotor es específico de las células eucariotas.</p>

**8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)**

<p>Los estudios de supervivencia han demostrado que el OMG VXM01, que consta de la misma bacteria portadora que NECVAX-NEO1, no tiene capacidad de proliferación en el medio ambiente y muere rápidamente después de un derrame accidental sobre superficies sólidas o su liberación al agua o aguas residuales.</p>
--

**9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)**

<p>Ninguna.</p>
-----------------

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

Para el seguimiento de alta sensibilidad del OMG en muestras biológicas como sangre, orina o heces, cultivos de enriquecimiento líquido, pueden ser analizados mediante PCR cuantitativa específica para secuencias del plásmido de expresión. En paralelo, se puede realizar la siembra en estrías en placas de agar selectivo de los cultivos de enriquecimiento. Si el plásmido se detecta mediante qPCR en cualquier cultivo líquido, las colonias visibles cultivadas en las placas selectivas se pueden analizar serológicamente para determinar si son de origen Ty21a. Este método permite enriquecer el OMG frente a otras bacterias, lo que puede ser necesario para muestras que muestran una alta carga biológica naturalmente resistente a la kanamicina.

### 2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No aplicable.

### 3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

Para la detección de la transferencia horizontal de genes, las muestras se pueden sembrar en un medio que contenga kanamicina, pero que por lo demás sea rico y no selectivo. Cualquier colonia que sea macroscópicamente diferente del OMG se recoge, se subcultiva y se analiza mediante PCR para detectar la presencia del plásmido de expresión.

### 4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No aplicable. El OMG se administra a pacientes de forma oral.

### 5. Duración del seguimiento

Se llevará a cabo un seguimiento exhaustivo de la seguridad de los pacientes durante todo el estudio y después del tratamiento en el seguimiento de seguridad. Dado que el perfil de eliminación se ha caracterizado bien en estudios anteriores con VXM01, no se realizarán más controles para NECVAX-NEO1.

### 6. Frecuencia del seguimiento

Durante la fase de tratamiento del estudio, las visitas se programan cada dos semanas. Como el perfil de eliminación del OMG VXM01 ha sido bien caracterizado en estudios anteriores, no se realizarán más controles para NECVAX-NEO1.

## **I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos**

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

Todas las superficies se desinfectarán de acuerdo con procedimientos locales documentados utilizando desinfectantes aprobados localmente.

### **2. Tratamiento del OMG tras la liberación**

Todo el material de desecho que ha estado en contacto con el OMG se recoge, se almacena en un contenedor irrompible bien cerrado y, finalmente, se destruye. El OMG no utilizado será retornado al promotor para su recuento y destrucción.

### **3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos**

Para cada administración se generan los siguientes materiales de desecho:

- componentes del embalaje primario (vial, tapón, volumen residual del OMG en el vial vacío).
- materiales desechables utilizados para la reconstitución y administración (vaso de precipitados de plástico, tapa de plástico, conector de vial, jeringa, tubos, cuchara de plástico, recipiente de plástico secundario).
- equipo de protección personal (como batas protectoras desechables, guantes, máscaras, gafas protectoras).

### **3. (b) Tratamiento de residuos**

Todos los materiales de desecho serán destruidos de acuerdo con la legislación y los procedimientos de los centros hospitalarios, como residuos con riesgo biológico.

## **J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia**

### **1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista**

En caso de contaminación (como contaminación de piel u ojos) el personal involucrado en la preparación, empaque o manejo del producto lo notificará a la persona/entidad responsable. En cada sitio de estudio está disponible un procedimiento escrito para medidas de emergencia en caso de derrame accidental del OMG. Todas las personas involucradas en el estudio recibirán capacitación sobre los procedimientos a seguir en caso de liberación accidental.

### **2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas**

Limpieza con solución biocida o toallitas para derrames.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No aplica.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

Los pacientes incluidos en el ensayo clínico serán monitoreados para detectar eventos adversos y eventos adversos graves (SAEs) de acuerdo con el protocolo clínico. Cada SAE será registrado y evaluado por el personal del hospital y el patrocinador del estudio, y se notificará a las autoridades sanitarias cuando corresponda. Los eventos adversos se registrarán e informarán de acuerdo con los procedimientos detallados del protocolo del estudio clínico.

En particular, puede considerarse el tratamiento de los pacientes con antibióticos para higienizar el ecosistema intestinal.

Debido a los amplios controles de procedimiento establecidos para el transporte, almacenamiento, administración, eliminación y seguimiento de la administración del OMG, el riesgo de una liberación accidental al medio ambiente, o de un efecto indeseable resultante de dicha liberación accidental, se considera insignificante.