

PARTE 1 (DECISIÓN 2002/813/CE DEL CONSEJO)

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

Para marcar una o varias posibilidades, utilice cruces (x o X) en el espacio proporcionado (.)

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

- | | |
|---------------------------------------------------|-------------------|
| (a) Estado miembro de la notificación: | España |
| (b) Número de la notificación: | B/ES/16/04 |
| (c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: | 03/02/2016 |
| (d) Título del proyecto: | |

Estudio de fase II, aleatorizado y abierto con una cohorte de preinclusión de seguridad de fase Ib de ONCOS-102, un adenovirus oncolítico que codifica GM-CSF para cebar el sistema inmunitario, y pemetrexed/cisplatino en pacientes con mesotelioma pleural maligno no resecable

(e) Periodo propuesto para la liberación

Del 2.º trimestre de 2016 al 4.º trimestre de 2018

2. Notificador: **Marie Moores**

Nombre de la institución o empresa: **Theradex (Europe) Ltd. en representación de Targovax Oy**

3. Caracterización del OMG

(a) Indíquese si el OMG es:

- | | |
|---------------|--------------------------------------|
| Viroide | (.) |
| Virus ARN | (.) |
| Virus ADN | (X) |
| Bacteria | (.) |
| Hongo | (.) |
| Animal | |
| - mamíferos | (.) |
| - insectos | (.) |
| - peces | (.) |
| - otro animal | (.) especifique el phylum y la clase |

(b) Identidad del OMG (género y especie)

Género Mastadenovirus
Especie Adenovirus C, serotipo 5

ONCOS-102 (previamente llamado CGTG-102) es un adenovirus humano basado en el serotipo 5, oncolítico, modificado genéticamente y capaz de replicarse. Está armado con el transgén GM-CSF y tiene una delección de 24 pares de bases que limita la replicación exclusivamente a tumores. Se ha modificado la cápside viral para transducir de forma efectiva las células tumorales.

(c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

En general, al tratarse de virus de ADN bicatenario con un tamaño de genoma de aproximadamente 36 kb, los adenovirus se consideran genéticamente estables. La polimerasa del ADN del adenovirus tiene actividad correctora y elimina los nucleótidos mal emparejados. Sin embargo, la posibilidad de coinfección permite la recombinación natural entre los adenovirus. Desempeña un papel importante en dar forma a las relaciones filogenéticas de los genomas de los adenovirus (Lukashev et al. 2008). La recombinación se produce principalmente entre cepas de la misma especie de adenovirus, en regiones de homología, aunque presumiblemente no se produce entre especies de adenovirus.

Los adenovirus son también capaces de recombinarse con el ADN cromosómico y, como resultado, las secuencias del vector pueden integrarse en el genoma de la célula huésped. Sin embargo, el ADN del vector normalmente permanece episomal y se elimina cuando la célula se divide o muere. Es poco probable que ocurran efectos adversos a consecuencia de la integración del adenovirus en el ADN de la célula huésped, ya que la mayoría de los genomas virales integrados son defectuosos, conteniendo un número importante de delecciones. Muchas o la mayoría de las integraciones del ADN de los adenovirus no tienen consecuencias biológicas reconocidas y la integración del ADN viral no produce necesariamente una transformación.

Para garantizar la estabilidad genética, se utilizan células huéspedes A549 en la producción de ONCOS-102. La línea celular A549 no posee ninguna secuencia adenoviral; por lo tanto, el riesgo de que se produzca una recombinación genómica del virus durante el proceso de fabricación es prácticamente nulo. El diseño del constructo de ONCOS-102 mejora la estabilidad genética restringiendo la longitud de las secuencias insertadas y, por lo tanto, asegura la capacidad de empaquetamiento del virus. Como consecuencia, durante la producción del virus, el genoma de ONCOS-102 se empaqueta eficientemente y tiene menos probabilidades de reordenarse, lo que puede dar lugar a cambios inesperados de sus propiedades.

A partir del lote de referencia de ONCOS-102 se ha secuenciado el genoma completo y se ha comparado con la Secuencia de Referencia de NCBI AC_000008.1. Las regiones que diferían de la secuencia del Ad5 se construyeron de la siguiente manera:

- E1A con delección de 24 pares de bases: se utilizó un artículo (Fueyo et al. 2000) a modo de referencia para localizar los 24 pares de bases eliminados de CR2 del E1A, en concreto los pares de bases 919-943. Se eliminaron los pares de bases de la secuencia.
- Delección en E3: se utilizó un artículo (Kanerva et al. 2005) a modo de referencia para localizar la delección de 965 pares de bases en E3.

- hGM-CSF en E3: se utilizó un plásmido comercial pORF.hGM-CSF (Invitrogen) para clonar el gen hGM-CSF al sitio de delección en E3. Por lo tanto, se obtuvo la secuencia de hGM-CSF de Invitrogen. Se conservaron los sitios de las enzimas de restricción procedentes de E3 para SunI y MunI en ambos extremos de la secuencia del gen, ya que se amplificó el gen hGM-CSF con cebadores que contenían dichos sitios y se subclonaron en el vector lanzadera pTHSN.
- Fibra quimérica: la secuencia del dominio *knob* del Ad5 se sustituyó por el dominio *knob* del Ad3, la secuencia AB361380.1 en la base de datos del NCBI.

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 (X) No (.)

En caso afirmativo, indique el código del país

Actualmente previsto en ES

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

Sí (X) No (.)

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación FI
- Número de la notificación B/FI/15/1MA

Solicitud para la liberación intencional en el medio ambiente para otros fines que no sean la comercialización presentada a la Junta de Tecnología Génica de Finlandia el 7 de diciembre de 2015.

Utilícense los siguientes códigos de países:

Austria AT; Bélgica BE; Alemania DE; Dinamarca DK; España ES; Finlandia FI; Francia FR; Reino Unido GB; Grecia GR; Irlanda IE; Islandia IS; Italia IT; Luxemburgo LU; Países Bajos NL; Noruega NO; Portugal PT; Suecia SE

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

Sí (.) No (X)

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación ...
- Número de la notificación B/././...

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

El primer aspecto tenido en cuenta en el diseño de ONCOS-102 ha sido la seguridad. ONCOS-102 es un virus oncolítico: se replica de forma selectiva en las células cancerosas, por lo tanto, en teoría no puede replicarse en personas sanas.

Si una persona sana se expusiera a ONCOS-102, es poco probable que le causara una infección debido a su naturaleza específica al cáncer. Sin embargo, incluso si se produjera la infección, los síntomas serían leves, principalmente síntomas gripales o gastrointestinales leves.

Los datos de seguridad provenientes de los pacientes tratados en el estudio ONCOS C1 demuestran que los efectos adversos del tratamiento con el virus son leves. Los

acontecimientos adversos más frecuentes relacionados con el tratamiento fueron pirexia, escalofríos, fatiga, dolor en el lugar de inyección, sensación de frío, hiperhidrosis, disminución del apetito y náuseas. Teniendo en cuenta que los pacientes padecían cáncer refractario asociado a un estado inmunocomprometido y que recibieron tratamiento con dosis altas de ONCOS-102, se puede concluir que en personas sanas ONCOS-102 se considera seguro.

Según una evaluación de riesgos, el riesgo principal de ONCOS-102 es la exposición del personal al virus mediante punción accidental con aguja o por la contaminación de las superficies. Las directrices de manipulación de ONCOS-102 indican que las personas que intervienen en la preparación y administración de la dosis deben seguir las precauciones universales y utilizar el equipo de protección personal (EPP) apropiado. La preparación de la dosis se debe realizar en una cámara de seguridad biológica (CSB) con un dispositivo de transferencia de sistema cerrado para reducir los riesgos de la posibilidad de generar e inhalar aerosoles. Un farmacéutico cualificado con formación específica sobre el protocolo será el responsable de la recepción de los materiales de ONCOS-102, de la conservación, de la documentación de la trazabilidad del producto en el centro de investigación y de la reconstitución el día de administración.

Si una persona se pincha accidentalmente con una aguja, el volumen administrado en el organismo es pequeño, básicamente la gota que podría encontrarse en la punta de la aguja. Incluso en el peor de los casos, teniendo en cuenta el lote viral sin diluir, la dosis máxima estimada administrada accidentalmente es menor del 5 % de la dosis de tratamiento. Como se ha mencionado anteriormente, los efectos adversos del tratamiento con ONCOS-102 normalmente son solo leves. Por tanto, es muy poco probable que la dosis accidental administrada a una persona sana cause algún síntoma.

Se han redactado medidas preventivas, incluidos protocolos normalizados de trabajo y formación del personal, para minimizar y controlar el riesgo de contaminación de las superficies. Se ha estudiado la estabilidad de ONCOS-102, y la prueba de la capacidad de conservación mostró que la infectividad del virus desaparecía después de 24 horas a temperatura ambiente.

El riesgo global que conlleva la transmisión de ONCOS-102 a un receptor no diana y al medio ambiente se considera escaso. Igualmente, el riesgo que conlleva la exposición secundaria por diseminación se considera escaso.

El riesgo para el receptor no diana debido al adenovirus de tipo salvaje como contaminante o a través de la recombinación, o el riesgo de las secuencias de ADN viral para el medio ambiente se consideran escasos debido a la combinación de las consecuencias escasas de la exposición y la probabilidad escasa de que se produzca.

Se han incorporado medidas de gestión del riesgo para minimizar los riesgos de la exposición a las personas no diana o al medio ambiente. Se proponen estrategias de seguimiento adecuadas para recopilar información adicional sobre la seguridad, persistencia y diseminación antes de continuar el desarrollo a una escala mayor.

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

1. Caracterización del organismo receptor o parental:

(a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

(Elíjase solo uno)

- Viroide (.)
- Virus ARN (.)
- Virus ADN (X)
- Bacteria (.)
- Hongo (.)
- Animal
 - mamíferos (.)
 - insectos (.)
 - peces (.)
 - otro animal (.) (especifique el phylum y la clase) ...

Otros, especifíquense:

2. Nombre
- (i) Orden y taxón superior (animales): Adenoviridae
 - (ii) Género: Mastadenovirus
 - (iii) Especie: Adenovirus C
 - (iv) Subespecie: Serotipo 5
 - (v) Cepa: ...
 - (vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): ...
 - (vii) Nombre vulgar: ...

3. Distribución geográfica del organismo

- (a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:
- Sí (X) No (.) No se sabe (.)

El adenovirus de serotipo 5 es un patógeno humano global y común.

- (b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:
- (i) Sí (X)

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

- Atlántico ..
- Mediterráneo ..
- Boreal ..
- Alpino ..
- Continental ..
- Macaronésico ..
- (ii) No (.)
- (iii) No se sabe (.)

Los adenovirus son muy estables y resistentes a la deshidratación, a la temperatura y al pH. Persisten en el suelo, el agua y otros lugares contaminados con heces humanas.

- (c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí (.) No (X)

(d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí (.) No (X)

4. Hábitat natural del organismo

(a) Si es un microorganismo:

Agua (.)

Suelo, en libertad (.)

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas (.)

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas (.)

Otros, especifíquense:

Los adenovirus humanos de serotipo 5 son específicos de los seres humanos. Los adenovirus de tipo salvaje son estables, lo que permite una supervivencia prolongada fuera del organismo.

(b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:

...

5. (a) Técnicas de detección

Técnicas de cultivo celular *in vitro*.

(b) Técnicas de identificación

Métodos convencionales de RCP y de RCP cuantitativa sensible, detección de anticuerpos, ensayo de enzimas de restricción, secuenciación.

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 (X) No (.)

En caso afirmativo, especifíquese:

Los adenovirus han sido asignados al grupo de riesgo 2 por los Institutos Nacionales de Salud (Directrices de los INS para la Investigación con Moléculas de Ácido Nucleico Recombinante o Sintético, noviembre de 2013) y la Comunidad Europea (Directiva 2000/54/CE).

Para trabajar con este vector se requiere un laboratorio de contención de nivel de bioseguridad 2.

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

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

En caso afirmativo:

(a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

Seres humanos	(X)
Animales	(.)
Plantas	(.)
Otros	(.)

En personas inmunocomprometidas o inmunosuprimidas las infecciones por adenovirus tienden a durar más, a ser más graves y, en algunas ocasiones, pueden incluso ser mortales.

- (b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

Patogenicidad

El adenovirus de tipo salvaje es un patógeno común de los seres humanos. Causa una amplia variedad de enfermedades.

Infectividad

El adenovirus es capaz de infectar múltiples sistemas y órganos. Tiene una prevalencia mundial y es ubicuo durante todo el año. El serotipo 5 es uno de los serotipos más comunes. La infección varía en cuanto a las manifestaciones clínicas y la gravedad; sin embargo, la mayoría de las infecciones son asintomáticas. Los adenovirus del grupo C, tipos 1, 2 y 5 están asociados a infecciones en las vías respiratorias, aunque pueden potencialmente diseminarse a los huéspedes inmunocomprometidos y a los recién nacidos, causando una morbilidad significativa e incluso mortalidad. El modo de transmisión del adenovirus es a través de las vías respiratorias y la vía oro-fecal. La infección también puede propagarse a través de dedos, vómitos o soluciones oftálmicas contaminados. La transmisión aérea ocurre por medio de aerosoles de gotícula pequeña y, en menor medida, de gotícula grande (Robinson 2007).

Las alteraciones en ONCOS-102 han reducido la infectividad y la patogenicidad en comparación con el Ad5 de tipo salvaje y los cambios debidos a los genes insertados se limitan exclusivamente a las células cancerosas donde el virus puede replicarse.

Toxigenicidad

Varios factores del adenovirus contribuyen a la patogenia: los pentones son directamente citotóxicos y durante el proceso de replicación viral y la lisis de las células susceptibles, las proteínas virales tempranas contrarrestan el factor de necrosis tumoral (TNF) y la apoptosis, y regulan a la baja la expresión de las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y de este modo previenen el reconocimiento por parte de las células T citotóxicas.

Virulencia

Las infecciones por adenovirus son frecuentes, tienen una distribución mundial y ocurren en cualquier época del año. Los adenovirus endémicos, que incluyen entre otros los serotipos Ad1, Ad2, Ad3, Ad5, Ad6, infectan en conjunto a más del 80 % de la población humana en fases tempranas de la vida, observando la incidencia máxima de infección entre los 6 meses y los 5 años de edad. A diferencia de los serotipos endémicos, que infectan principalmente a niños, los demás serotipos de adenovirus se dan en epidemias y pueden infectar a cualquier persona que no haya sido previamente infectada por los mismos (Norking 2010).

Con un gran tropismo, los adenovirus pueden infectar varias células, tanto las células en división como las células quiescentes. Por lo tanto, son capaces de infectar múltiples sistemas

y órganos. El lugar de entrada determina por lo general el lugar de infección. Las infecciones de las vías respiratorias son consecuencia de la inhalación de gotículas, mientras que la afectación gastrointestinal se debe a la transmisión oro-fecal. La mayoría de las infecciones por adenovirus endémicos frecuentes son asintomáticas, lo que potencia la propagación de estos virus.

Alergenicidad: El adenovirus activa el sistema inmunitario para proteger el organismo de efectos nocivos. No se puede considerar como una reacción de hipersensibilidad o como una sobrerreacción a una sustancia inofensiva (un alérgeno).

Portador (vector) del patógeno: No

Posibles vectores: Ninguno

Gama de organismos huéspedes incluido el organismo no diana: Humanos

Posible activación de virus latentes (provirus):

Los adenovirus humanos pueden mostrar una persistencia y una latencia considerables después de la infección aguda. Algunos tipos son capaces de establecer infecciones asintomáticas persistentes en las amígdalas y adenoides: pueden encontrarse en tejido adenoideo durante una amigdalectomía rutinaria.

El adenovirus es resistente a los jugos gástricos, la bilis y las proteasas pancreáticas, por lo que puede pasar por el estómago y replicarse en el intestino.

Los adenovirus pueden causar infecciones latentes también en los linfocitos de las mucosas que pueden dar lugar a la reactivación de la producción de virus infecciosos.

La diseminación prolongada del virus desde varios lugares del organismo contribuye a la transmisión.

Capacidad de colonizar otros organismos: No coloniza otros organismos.

8. Información sobre reproducción

(a) **Tiempo de generación en ecosistemas naturales:**

El adenovirus es un parásito humano obligado. Los viriones son metabólicamente inactivos fuera de la célula huésped.

(b) **Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:**

...

(c) **Modo de reproducción:** Sexual Asexual X

(d) **Factores que afectan a la reproducción:**

En su huésped, el adenovirus puede beneficiarse de la respuesta inmunitaria alterada: en personas inmunocomprometidas (muy jóvenes o de edad avanzada) y en personas inmunosuprimidas debido a un tratamiento o una enfermedad subyacente como el tratamiento inmunosupresor con medicamentos citotóxicos, el uso de corticoesteroides, la radioterapia, el SIDA, la desnutrición o las quemaduras graves, las infecciones tienden a durar más, ser más graves y, en algunas ocasiones, mortales. Durante los últimos años, los

adenovirus se consideran cada vez más como patógenos virales importantes, lo que puede asociarse al crecimiento de la población inmunocomprometida, especialmente de los pacientes con inmunodeficiencias adquiridas.

9. Capacidad de supervivencia

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

- | | | |
|--------|----------------------------|-----|
| (i) | endosporas | (.) |
| (ii) | quistes | (.) |
| (iii) | esclerocitos | (.) |
| (iv) | esporas asexuales (hongos) | (.) |
| (v) | esporas sexuales (hongos) | (.) |
| (vi) | huevos | (.) |
| (vii) | pupas | (.) |
| (viii) | larvas | (.) |
| (ix) | otras, especifíquese | ... |

(b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia:

Los adenovirus son resistentes a desinfectantes lipídicos, pero se inactivan con formaldehído y cloro (Flomenberg, 2009). Se produce una inactivación variable asimismo con yodo y luz UV. El ADN viral se puede detectar mucho después de haberse destruido la infectividad. Las modificaciones genéticas de ONCOS-102 no interfieren en la sensibilidad a la inactivación física y química.

Inactivación física: el adenovirus de tipo salvaje se puede inactivar con calor. Si se calienta a temperaturas $>56\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos o se esteriliza en autoclave, se destruirá la infectividad (Robinson y Echavarría 2007). Se puede obtener una reducción mayor de ocho factores logarítmicos en la potencia del adenovirus de tipo 5 al exponer la muestra a temperaturas $>70\text{ }^{\circ}\text{C}$ y durante tiempos mayores de 20 minutos (Maheshwari, 2004).

Inactivación química: el adenovirus se puede inactivar mediante el contacto con una dilución 1:5 de lejía durante 1 minuto o el contacto con geles para manos con base de alcohol durante 2 minutos (Robinson y Echavarría 2007). El alcohol etílico, a concentraciones del 60 % al 80 %, es un agente virucida potente que inactiva todos los virus lipofílicos y muchos virus hidrofílicos (p. ej., los adenovirus).

En el caso de los adenovirus, el fabricante recomienda solución de Barrydin al 2,0 % durante 60 minutos o solución de Barrydin al 4,0 % durante 30 minutos para una desinfección en un tiempo breve.

Virkon[®]S es un desinfectante oxidativo comercialmente disponible utilizado frente a una variedad de virus. Se propone Virkon[®]S líquido al 0,9 % para procedimientos de descontaminación de los adenovirus de tipo 5 con tiempos de contacto superiores a 5 minutos (McCormick y Maheshwari, 2004).

Tras la reconstitución y administración de ONCOS-102 en un centro del estudio, se deben eliminar los materiales utilizados durante el procedimiento de acuerdo con los requisitos locales/regionales e institucionales apropiados para la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos mediante autoclave y/o incineración, ya sea en el centro o fuera del centro. Todo el equipo no desechable y demás materiales utilizados durante el procedimiento se limpiarán con un desinfectante químico con actividad virucida durante el tiempo de contacto necesario, o se esterilizarán en autoclave de acuerdo con las directrices del centro local para la manipulación de materiales potencialmente infecciosos.

10. (a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del adenovirus es a través de las vías respiratorias y la vía oro-fecal. La infección también puede propagarse a través de dedos, vómitos o soluciones oftálmicas contaminados. La transmisión aérea ocurre por medio de aerosoles de gotícula pequeña y, en menor medida, de gotícula grande (Robinson 2007).

(b) Factores que afectan a la diseminación

Los brotes de la enfermedad respiratoria asociada al adenovirus son más frecuentes a finales de invierno, en primavera y a principios de verano. Sin embargo, las infecciones por adenovirus pueden producirse a lo largo de todo el año. El adenovirus se disemina de forma más eficiente entre multitudes.

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) ..., B/.../...

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética

- | | | |
|-------|--------------------------------|-----|
| (i) | Inserción de material genético | (X) |
| (ii) | Deleción de material genético | (X) |
| (iii) | Sustitución de una base | (.) |
| (iv) | Fusión celular | (.) |
| (v) | Otros, especifíquese | ... |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

ONCOS-102 es un adenovirus de serotipo 5 (Ad5) que muestra las siguientes modificaciones que difieren del genoma del Ad5:

- Una deleción de 24 pares de bases (pb) en la región constante 2 (CR2) del gen E1A. La proteína E1A disfuncional es incapaz de unirse a la proteína celular del retinoblastoma (Rb) para producir la liberación del factor de transcripción E2F1 del Rb, lo que da lugar a la necesidad de E2F1 libre para la transcripción génica del adenovirus. El E2F1 libre es abundante en las células cancerosas, donde normalmente hay una alteración de la vía Rb/p16. De esta forma, los virus con la deleción de los 24 pares de bases en E1A pueden replicarse de forma eficaz en las células cancerosas, pero se ven atenuados en las células normales. E2F1 activa otros promotores de adenovirus que, en última instancia, originan la replicación y la lisis.
- Se ha introducido una deleción de 965 pares de bases en la región temprana 3 (E3) que codifica las proteínas 6.7K y gp19K. Estas proteínas se asocian a la capacidad del adenovirus de evadir los mecanismos de control inmunitario del huésped y sus funciones no son necesarias para la replicación del adenovirus. De hecho, la deleción de gp19K puede potenciar la selectividad tumoral del virus. Normalmente, esta proteína regula a la baja

HLA-1 para evitar la detección por parte de las células T. Sin embargo, ya que muchos tumores avanzados son HLA-1 negativos, esta interacción no es necesaria, ya que las células normales transducidas (no permisivas para la replicación) se eliminan más deprisa al ser rápidamente reconocidas por las células T.

- 3. Se ha introducido un transgén que codifica la proteína del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) humano en la región E3, sustituyendo 6.7K y gp19K. La transcripción del gen GM-CSF en el ARNm está controlada por el promotor endógeno E3. GM-CSF es un activador potente del sistema inmunitario con propiedades antitumorales establecidas.
- 4. Se ha sustituido el *knob* de la fibra del serotipo 5 por el *knob* de la fibra del serotipo 3, permitiendo así que el virus entre en las células a través del receptor del serotipo 3 (expresado frecuentemente en gran cantidad en las células tumorales), en vez del receptor CAR del serotipo 5 (frecuentemente regulado a la baja en los tumores avanzados).

3. (a) ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?
Sí (X) No (.)

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

(b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?
Sí (.) No (X)

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 (.)
Bacteriófago (.)
Virus (.)
Cósmido (.)
Elemento de transposición (.)
Otros, especifíquense: ...

(b) Identidad del vector:

...

(c) Gama de organismos huéspedes del vector:

(d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable
Sí (.) No (.)

Resistencia a los antibióticos (.)
Otras, especifíquense ...

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

...

- (e) Fragmentos constituyentes del vector
- (f) Método de introducción del vector en el organismo receptor
 - (i) Transformación (.)
 - (ii) Electroporación (.)
 - (iii) Macroinyección (.)
 - (iv) Microinyección (.)
 - (v) Infección (.)
 - (vi) Otros, especifíquense: ...

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

- (i) Transformación (.)
- (ii) Microinyección (.)
- (iii) Microencapsulación (.)
- (iv) Macroinyección (.)
- (v) Otros, especifíquense

ONCOS-102 se generó y se amplificó utilizando técnicas de preparación de adenovirus estándar. Se construyó un plásmido quimérico de fibra y se recombinó con un vector lanzadera que contenía la delección de 24 pares de bases en E1A dando lugar al plásmido pAd5/3-D24.

Se creó un vector pTHSN de clonación de la región E3 que incluye una delección de 965 pares de bases en la región E3 para introducir el gen GM-CSF humano en el lugar de gp19k y 6.7k de E3 eliminados.

El ADNc de 432 pares de bases que codifica el GM-CSF humano se amplificó e introdujo en pTHSN. Se generó pAd5/3-D24-GM-CSF por recombinación homóloga de pTHSN-GM-CSF y pAd5/3-D24 en *Escherichia coli*, resultando en el plásmido pAd5/3-D24-GM-CSF. pAd5/3-D24-GM-CSF incorporaba el genoma completo de ONCOS-102 en un esqueleto bacteriano, lo que hizo posible la replicación del genoma viral como una parte del plásmido circular en las células bacterianas.

El genoma de ONCOS-102 se liberó del esqueleto bacteriano del plásmido pAd5/3-D24-GM-CSF por digestión con la enzima de restricción PacI y se transfectó en las células A549 para la amplificación y el rescate posteriores.

6. Información sobre el fragmento de inserción:

(a) Composición del fragmento de inserción:

ADN complementario que codifica el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) humano

(b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

Un plásmido comercial (Invitrogen) que contiene el ADN complementario que codifica GM-CSF humano.

(c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG:

GM-CSF es un inductor potente de la inmunidad antitumoral. Recluta las células presentadoras de antígenos (CPA) y las células asesinas naturales (NK), y activa y madura las CPA en el lugar tumoral, potenciando así la capacidad de ONCOS-102 para inducir inmunidad celular frente al tumor donde se replica.

(e) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre (.)
- integrado en el cromosoma (.)
- otros, especifíquense: ...

El ADN viral se replica en el núcleo de las células del huésped donde los virus utilizan la maquinaria translacional de las células del huésped. Sin embargo, ONCOS-102 se replica únicamente en las células cancerosas con deficiencia en la vía Rb-p16 que tienen disponible factor de transcripción E2F libre.

El ADN del vector permanecerá episomal y se eliminará cuando la célula se divida o se muera.

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

Sí (.) No (X)
En caso afirmativo, especifíquense: ...

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

1. Indíquese si es:

- Viroide (.)
- Virus ARN (.)
- Virus ADN (.)
- Bacteria (.)
- Hongo (.)
- Animal
- mamíferos (X) GM-CSF humano
- insectos (.)
- peces (.)
- otro animal (.) (especifique el phylum y la clase):
- Otros (especifíquense) ...

2. Nombre completo

- (i) Orden y taxón superior (animales): Primates
- (ii) Familia (plantas): Hominidae
- (iii) Género: Homo
- (iv) Especie: Sapiens
- (v) Subespecie: Homo sapiens sapiens

- (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 (.) No (X) No se sabe (.)

En caso afirmativo, especifíquese:

(a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

- Humanos (.)
- Animales (.)
- Plantas (.)
- Otros ..

(b) ¿Están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?

Sí (.) No (X) No se sabe (.)

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 (.) No (X)

En caso afirmativo, especifíquese: ...

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

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

Los adenovirus son capaces de recombinarse con el ADN del cromosoma y, por tanto, pueden intercambiarse el material genético con las células del huésped. Sin embargo, el ADN del vector normalmente permanece episomal y se elimina cuando la célula se divide o muere. Además, la integración es un evento bastante raro y muchas o la mayoría de las integraciones del ADN de los adenovirus no tienen consecuencias biológicas reconocidas.

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 (X) No (.) No se sabe (.)

Especifíquese:

Los adenovirus de tipo salvaje son estables. Según los estudios de estabilidad, la infectividad de ONCOS-102 comienza a disminuir tras 5 horas a temperatura ambiente cuando se diluye en NaCl al 0,9 %. Tras 24 horas, la infectividad disminuye considerablemente y tras 48 horas no se detectan partículas infecciosas. Por lo tanto, es poco probable que ONCOS-102 liberado inadvertidamente pueda sobrevivir o diseminarse en el medio ambiente.

(b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

Especifíquese:

El genoma del virus ONCOS-102 se ha modificado con una delección de 24 pares de bases en el lugar de unión del retinoblastoma de E1A, lo que permite que el virus se replique únicamente en las células cancerosas con deficiencia de la vía Rb-p16. Por lo tanto, en teoría es incapaz de replicarse en personas sanas y en los tejidos normales de las personas con cáncer.

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

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

Especifíquese:

Se ha restringido la infectividad en las células normales por una sustitución genética de la región *knob* del Ad5 con el dominio correspondiente del Ad3, lo que permite que el virus se una y entre a través del receptor del Ad3, que se expresa en gran cantidad en las células tumorales.

La ausencia de los genes virales 6.7K y gp19K, debido a una delección de 965 pares de bases en la región E3, hace que ONCOS-102 sea incapaz de evadir el sistema inmunitario del huésped y da lugar a una eliminación más eficaz del OMG.

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

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

Especifíquese:

Debido a las restricciones ya mencionadas en la capacidad de replicación del vector en los tejidos normales, el potencial de replicación de ONCOS-102 y, por tanto, la patogenicidad de ONCOS-102 difieren significativamente del organismo parental de tipo salvaje, es decir, ONCOS-102 es significativamente menos patógeno.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

La estabilidad genética se ha evaluado mediante el ensayo de la enzima de restricción y mediante secuenciación, y ONCOS-102 ha permanecido genéticamente estable al menos durante siete pasajes.

Además, se han determinado la expresión y la funcionalidad del producto del fragmento de inserción genético GM-CSF y la especificidad del vector de infección mediante análisis *in vitro* adecuados. Los resultados muestran que la estabilidad genética es comparable de lote a lote.

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

Sí (X) No (.) No se sabe (.)

En caso afirmativo:

(a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

Humanos	(X)
Animales	(.)
Plantas	(.)
Otros	...

(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

Patogenicidad

En comparación con el adenovirus de tipo salvaje, ONCOS-102 es menos patógeno debido a las restricciones en la capacidad de replicación del vector en tejidos normales.

Infectividad

Las alteraciones en ONCOS-102 han reducido la infectividad en comparación con el Ad5 de tipo salvaje y la replicación de ONCOS-102 se restringe exclusivamente a las células cancerosas.

Toxigenicidad

Los pentones no se modifican y son tan citotóxicos como en el virus parental.

Las proteínas virales tempranas contrarrestan el factor de necrosis tumoral y la apoptosis como en el tipo salvaje.

Virulencia

Se ha reducido la capacidad de causar enfermedad.

La gama de organismos huéspedes, incluidos los organismos no diana, no ha cambiado.

Posible activación de los virus latentes (provirus)

ONCOS-102 se replica únicamente en las células tumorales. Se administra por vía intratumoral, lo que reduce la posibilidad de infecciones asintomáticas persistentes en las amígdalas, adenoides e intestino. Alcanza los tejidos a través de la circulación, pero es incapaz de replicarse en células normales.

La capacidad de colonizar otros organismos no ha cambiado. No hay colonización.

ONCOS-102 es inmunogénico e induce una respuesta inflamatoria innata y aguda y respuestas inmunitarias adaptativas, lo que causa la destrucción de las células transducidas.

Consideraciones relativas a la salud en seres humanos, en animales y en plantas:

Los potenciales efectos directos en la salud humana se limitan a la transmisión de ONCOS-102 a un receptor humano no diana. Se espera que estos potenciales efectos

adversos sean los mismos que los que se esperan en los pacientes que reciben el tratamiento, aunque de intensidad mucho menor.

Los potenciales efectos indirectos de la liberación se limitan a las consecuencias de la diseminación de ONCOS-102 desde el lugar de inyección, la diseminación o la liberación del adenovirus de tipo salvaje mediante la contaminación del producto durante la fabricación o tras recombinarse en las células del receptor, siendo todos estos casos muy poco probables.

Es poco probable que ONCOS-102 suponga un riesgo para la salud y la seguridad en humanos.

Los potenciales efectos para el medio ambiente podrían ser la diseminación de ONCOS-102 al medio ambiente o la transferencia del material genético insertado a un virus animal. Se anticipa que el virus diseminado o los posibles recombinantes no serán infecciosos para otros organismos que no sean humanos. Las consecuencias de la exposición al medio ambiente son por lo tanto menores.

La probabilidad de que ONCOS-102 constituya un peligro para el medio ambiente es muy escasa.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

(a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:

La presencia de partículas virales infecciosas en una muestra se puede determinar mediante un método cualitativo habitual de cultivo de virus. La presencia de virus induce cambios morfológicos en células A549 (carcinoma pulmonar humano) permisivas a la replicación del adenovirus, que pueden detectarse microscópicamente. Los cambios debidos a la infección se clasifican como efectos citopáticos (ECP) y en caso de ECP la muestra se considera positiva. El método no es específico para ONCOS-102, sino que detecta todos los serotipos de adenovirus de la muestra y los resultados positivos se deben verificar mediante la identificación de ONCOS-102 por RCP cuantitativa. Sin embargo, el método es capaz de detectar una partícula infecciosa de una muestra, es científicamente sólido y adecuado a estos efectos.

Se puede utilizar la RCP cuantitativa específica y altamente sensible para identificar las modificaciones específicas de ONCOS-102 a partir de las muestras en hisopos.

(b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Métodos específicos de RCP o RCP cuantitativa, detección de anticuerpos, ensayo de enzimas de restricción, secuenciación del ADN.

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de la liberación es evaluar la seguridad de ONCOS-102 cebado con ciclofosfamida (CPO) en combinación con pemetrexed/cisplatino en pacientes con mesotelioma pleural maligno no resecable.

El ensayo clínico es un estudio abierto, de grupos paralelos y multicéntrico que se realizará en 2 fases: una fase de seguridad no aleatorizada y una fase aleatorizada.

La fase de seguridad se realizará en una cohorte de 6 pacientes. Se podrá tratar a otra cohorte de 6 pacientes si la información obtenida de la cohorte de preinclusión de seguridad inicial no se considera suficiente para tomar decisiones.

La fase aleatorizada incluirá a un total de 24 pacientes: 14 pacientes del grupo de ONCOS-102 y quimioterapia (experimental) y 10 pacientes del grupo de solo quimioterapia (control).

En la fase de seguridad, se administrará ONCOS-102 en un ciclo de cebado (ciclo 1) que consta de inyecciones los días 1, 4, 8 y 36, seguido de dos ciclos de tratamiento a intervalos de 6 semanas (ciclo 2, día 78 y ciclo 3, día 120). Se administrará un tratamiento previo con una inyección IV en bolo de ciclofosfamida (CPO) de 1 a 3 días antes de la primera administración de ONCOS-102 (ciclo 1, día 1) y antes de la administración de ONCOS-102 del ciclo 2 (día 78). Los pacientes recibirán también pemetrexed/cisplatino en ciclos de 21 días, comenzando el día 22 y continuando según proceda durante el periodo del estudio de 6 ciclos de pemetrexed/cisplatino en combinación con ONCOS-102.

Después de que los 3 primeros pacientes hayan completado la visita del día 64 (es decir, tras 2 ciclos de pemetrexed/cisplatino en combinación con ONCOS-102), el comité de vigilancia de datos y seguridad (CVDS) revisará todos los datos disponibles. Si se considera adecuado, se reclutará a otros 3 pacientes más para la cohorte de preinclusión de seguridad. Los datos de seguridad de los 6 pacientes serán revisados por el comité de vigilancia de datos y seguridad cuando se hayan obtenido los datos de seguridad hasta el día 64 del último paciente de la cohorte. Si los datos de seguridad de la cohorte de preinclusión se consideran inaceptables, se podrá incluir una cohorte adicional de 6 pacientes para recibir una dosis modificada de ONCOS-102.

La fase aleatorizada no comenzará hasta que el comité de vigilancia de datos y seguridad (CVDS) haya considerado que la cohorte de preinclusión de seguridad es apropiada para continuar (con o sin ajustes de la dosis de preinclusión inicial de ONCOS-102). En la fase aleatorizada se incluirá a un total de 24 pacientes; 14 pacientes serán aleatorizados a recibir ONCOS-102 y pemetrexed/cisplatino (grupo experimental) y 10 pacientes recibirán únicamente pemetrexed/cisplatino (grupo de control). El esquema de administración de los pacientes del grupo experimental de la fase aleatorizada es el mismo que el de los pacientes de la fase de seguridad.

Los pacientes de la fase de seguridad y los pacientes del grupo experimental de la fase aleatorizada recibirán ONCOS-102 a una dosis de 3×10^{11} partículas virales (PV)/inyección de 2,5 ml. La dosis total de partículas virales en cada paciente individual será la misma durante todo el ensayo.

ONCOS-102 se administra por vía intratumoral con guía ecográfica. Únicamente los profesionales médicos formados administrarán el producto en una dependencia del centro del estudio adecuada.

Se seguirán las directrices para la correcta manipulación, el equipo de protección personal, los derrames inadvertidos y la eliminación de los desechos durante la preparación y la administración del producto.

Las exposiciones accidentales se notificarán de acuerdo con la normativa local. Además, se facilitará al centro del ensayo clínico otro formulario para la notificación de accidentes.

En las directrices de manipulación de ONCOS-102, entregadas al centro del estudio por Targovax, se proporcionan las precauciones de uso.

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 (X) No (.)

En caso afirmativo, especifíquese: ...

ONCOS-102 se administrará en una dependencia del centro clínico de acceso restringido.

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

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

ONCOS-102 se administrará en los siguientes centros del estudio clínico en España.

Direcciones de los centros de estudio:

Hospital 12 de Octubre
Servicio Oncología Médica
Edificio Maternidad 2ª planta
Avda. Andalucía s/n
28041-Madrid-España

Instituto Oncológico Dr Rosell
Hospital Universitario Quirón Dexeus
Servicio de Oncología Médica
Planta -1 Consulta -1.1
c/ Sabino Arana 5-19
08028 Barcelona

- (b) Área del lugar (m²): ... m²
(i) lugar real de la liberación (m²): ... m²
(ii) área de liberación más amplia (m²): ... m²

La manipulación de ONCOS-102 se llevará a cabo en la farmacia del hospital. Las instalaciones están aprobadas para el uso de organismos de nivel de contención 2. Las directrices de manipulación de ONCOS-102 indican que las personas que intervienen en la preparación y administración de la dosis deben seguir las precauciones universales y utilizar el equipo de protección personal. La preparación de la dosis se debe realizar en una cámara de seguridad biológica (CSB) con un dispositivo de transferencia de sistema cerrado para reducir los riesgos de la posibilidad de generar e inhalar aerosoles.

Los pacientes serán tratados y permanecerán en observación en habitaciones individuales separadas y los seis pacientes de la fase de seguridad serán hospitalizados durante 24 horas después de la dosis en estas mismas habitaciones. Los pacientes de la fase aleatorizada permanecerán en la habitación del hospital durante 20 horas tras cada administración.

La farmacia y las salas de tratamiento deben tener acceso restringido, lo que significa que el acceso está controlado y limitado al personal autorizado del hospital formado en las medidas de control de infecciones. Se colocará en cada puerta de acceso el pictograma internacional de peligro biológico. El pictograma de peligro biológico se puede retirar de la puerta de la sala de tratamiento cuando se haya dado el alta al paciente.

Las superficies ambientales, las habitaciones del hospital, las consultas en las que se atiende a los pacientes y los dispositivos de los equipos utilizados para atender a los pacientes se deben limpiar de forma rutinaria con un desinfectante de grado hospitalario. Una vez que el paciente reciba el alta para irse a casa, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se limpiarán con agua caliente (>70 °C) y un detergente. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

(c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

...

(d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

...

4. Método y amplitud de la liberación

(a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

El número máximo de pacientes es 36. Cada paciente recibirá 6 inyecciones que contienen 3×10^{11} partículas virales/inyección de 2,5 ml. ONCOS-102 está formulado como un concentrado a una concentración de 5×10^{11} partículas virales (PV) por mililitro (ml). El volumen de cada vial es de 0,8 ml. Antes de la administración, el producto se conserva en un congelador a temperatura controlada a -60 °C o inferior. Se descongela un vial de ONCOS-102 por dosis. La cantidad total de ONCOS-102 sin diluir será de 173 ml por lo que la cantidad total de partículas virales que se liberarán es de aproximadamente $8,6 \times 10^{13}$.

(b) Duración de la operación:

Del 2.º trimestre de 2016 al 4.º trimestre de 2018

(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

ONCOS-102 se libera para uso en ensayos clínicos únicamente. Los virus están formulados en una solución, que se presenta en viales de vidrio de 2 ml, herméticamente cerrados con un tapón de caucho y una cápsula de aluminio. Se pega una primera etiqueta a cada vial. Antes de la administración, el producto se conserva en un congelador a temperatura controlada a -60 °C o inferior en la farmacia o en otro lugar seguro adecuado.

La administración es responsabilidad de los profesionales médicos formados, de acuerdo con el protocolo clínico y respetando las buenas prácticas clínicas. El producto debe prepararse en condiciones asépticas en consonancia con las soluciones inyectables. La preparación de la dosis se realiza en una CSB con un dispositivo de transferencia de sistema cerrado.

La CSB se descontaminará antes y después de la manipulación, primero con un desinfectante que inactive el virus y después con EtOH al 70 %.

Todas las personas que intervengan en la manipulación de ONCOS-102 o de algún material potencialmente contaminado deben llevar un equipo de protección personal. Todas las transferencias deben realizarse utilizando una caja de transporte de plástico hermética marcada con el pictograma de peligro biológico e irá acompañada de un kit de descontaminación por si se produjera un derrame durante el transporte. El personal del centro seguirá la política estándar del hospital recomendada para la manipulación de vacunas con virus vivos.

En caso de derrame accidental, se aislará el área del derrame y se dejará vacío para que los aerosoles se depositen. El personal encargado de la limpieza del derrame debe llevar puesto el equipo de protección personal. Se pone con cuidado papel absorbente o paños sobre el derrame empezando desde los bordes. El derrame debe absorberse con papel absorbente y se debe aplicar un desinfectante activo con actividad virucida. El tiempo de contacto con el desinfectante será de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Todo el personal que interviene en la manipulación del producto debe ser informado de que en caso de:

- Salpicadura en los ojos: se debe aclarar los ojos con agua limpia o suero fisiológico (NaCl al 0,9 %)
- Salpicadura en la piel sana: se debe limpiar la zona con un papel absorbente humedecido con desinfectante virucida y aclarar con agua limpia durante al menos 15 minutos. El papel absorbente contaminado debe tratarse como material infeccioso.
- Cortes o punciones: se debe dejar que la herida sangre antes de lavarse bajo un chorro de agua limpia, preferiblemente estéril. A continuación se debe cubrir la zona de la lesión con un vendaje de gasa estéril que se eliminará de acuerdo con el procedimiento habitual del hospital una vez que se retire. La persona debe acudir y ser controlada por un médico.

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

...

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

Estudio explorador y abierto de un adenovirus oncolítico que codifica GM-CSF, ONCOS-102, con ciclofosfamida a dosis bajas en pacientes con tumores sólidos refractarios inyectables, ONCOS C1, desde el 02 de abril de 2012 hasta el 29 de octubre de 2013, Número EudraCT: 2011-001657-82:

Se trataba de un estudio con un diseño clásico de aumento de la dosis, 3 + 3, para establecer la dosis recomendada para seguir con el desarrollo de ONCOS-102 con ciclofosfamida. Cinco de los 12 pacientes recibieron el máximo de 9 dosis de ONCOS-102 durante un periodo de cinco meses.

Los 12 pacientes recibieron 4 inyecciones de ONCOS-102 en el primer mes del estudio. Por lo tanto, ONCOS-102 fue tolerado, según la definición del protocolo, a dosis de 3×10^{10} PV/inyección, 1×10^{11} PV/inyección y 3×10^{11} PV/inyección. No se confirmaron toxicidades limitantes de la dosis (TLD) ni se estableció la dosis máxima tolerada (DMT).

Todos los pacientes que participaron en el estudio presentaron al menos un acontecimiento adverso (AA). No hubo indicios de una relación entre la dosis de ONCOS-102 y la incidencia o la intensidad de los AA. El AA más frecuente fue pirexia, que se notificó en todos los pacientes. Los otros AA frecuentes, notificados en el 50,0 % de los pacientes fueron: escalofríos, fatiga, dolor en el lugar de inyección, sensación de frío, hiperhidrosis, disminución del apetito, náuseas y pérdida de peso. La mayoría de los AA fueron de grado 1 o grado 2. Se notificaron AA de grado 3 en 6 pacientes de los que los AA en 5 pacientes se consideraron relacionados con el tratamiento: pirexia, aumento de FA, aumento de ASAT, proteinuria, hiponatremia, anemia, fatiga, edema periférico y disnea.

No se produjeron AA de grado 4. Se produjeron acontecimientos adversos graves en 5 pacientes. Cinco de los 7 AAG se evaluaron como no relacionados o poco probable que estuvieran relacionados con el medicamento del estudio: obstrucción duodenal, hemorragia en el intestino delgado, obstrucción del colon, ruptura muscular y dolor abdominal. Una paciente presentó AAG de edema periférico e hipoalbuminemia de grado 3, evaluados por el investigador como posiblemente relacionados con el medicamento del estudio. Sin embargo, la paciente tenía enfermedad metastásica avanzada y murió debido a la enfermedad subyacente más de 1 mes después de la última administración de ONCOS-102.

Los datos de seguridad de apoyo sobre ONCOS-102 en pacientes con cáncer sugieren que los niveles de dosis aplicados son seguros. En un programa de acceso a terapia avanzada (ATAP), 115 pacientes con cáncer en estadio avanzado recibieron tratamiento con ONCOS-102 con dosis de hasta 4×10^{11} PV. El programa de acceso a terapia avanzada no fue un ensayo sino un programa de tratamiento individualizado regulado por la agencia finlandesa de medicamentos (FIMEA) según el Reglamento sobre medicamentos de terapia avanzada, CE/1394/2007.

En el estudio de fase I, Oncos C1, se recogieron muestras de orina e hisopos bucales para el análisis viral (número de copias del genoma viral, presencia de virus infeccioso) antes de la administración los días 1, 4, 8 y 15, y antes del alta los días 2, 5, 9 y 16. Se detectó el virus antes de la administración en una ocasión (día 4): en la orina de 1 paciente y en los frotis bucales de 3 pacientes, pero no en los días de administración posteriores.

El motivo del resultado positivo antes de la administración el día 1 podría estar relacionado con el hecho de que se administró el 20 % de la dosis por vía IV el día 1. En todas las demás ocasiones, se administró el volumen total por vía IT.

No se administrarán inyecciones IV en los estudios futuros.

Existe un riesgo en teoría de diseminación de ONCOS-102 en el medio ambiente desde los pacientes que reciben el tratamiento. Sin embargo, en el estudio de fase I, Oncos C1, no se detectó ningún virus en la orina ni en los frotis bucales en el momento del alta después de la administración en ninguno de los pacientes.

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 objeto de investigación (si procede)
 - (i) Orden y taxón superior (animales): ...
 - (ii) Familia (plantas): ...
 - (iii) Género: ...
 - (iv) Especie: ...
 - (v) Subespecie: ...

- (vi) Cepa: ...
- (vii) Cultivar/Línea de reproducción: ...
- (viii) Patovar: ...
- (viii) Nombre vulgar: ...

Los organismos diana son los seres humanos, pacientes oncológicos, hombres con cáncer de próstata metastásico avanzado resistente a la castración.

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

La muerte oncolítica de las células cancerosas causada por ONCOS-102 da lugar a una liberación significativa de epítomos tumorales para el reconocimiento por parte de las células presentadoras de antígenos y representa una señal de peligro coestimuladora potente que produce una activación del sistema inmunitario. Se ha demostrado *in vitro* que ONCOS-102 induce la muerte celular inmunogénica (ICD), según determina la exposición de calreticulina en la superficie celular y la liberación de ATP y HMGB1 de las células cancerosas muertas (Liikanen et al., 2013). Se ha sugerido que la muerte celular inmunogénica es un paso potencialmente crucial entre las respuestas inmunitarias innatas y adaptivas, y podría ser parcialmente responsable de la eficacia de algunos medicamentos quimioterapéuticos, incluidas las antraciclinas (Obeid et al., 2007; Kepp et al., 2011). Por lo tanto, la oncolisis en sí puede producir una inmunidad antitumoral, y la combinación con medicamentos quimioterapéuticos podría potenciar más la inducción de una inmunidad antitumoral específica.

El armar los adenovirus oncolíticos con transgenes inmunomoduladores tiene como objetivo potenciar su actividad antineoplásica. En un estudio de fase I reciente, la administración local de ONCOS-102 demostró inducir la infiltración de células inmunitarias innatas y células T CD8+ en la zona tumoral. Simultáneamente, se detectó la inducción de células T CD8+ específicas del tumor en el análisis ELISPOT con interferón-gamma de células mononucleares en sangre periférica (PBMC) (Ranki, 2014; Vassilev, 2015).

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

Los adenovirus humanos se replican únicamente en las células humanas. Es muy poco probable que se produzca recombinación con otros organismos ya que necesitaría la replicación simultánea de adenovirus de diferentes especies en la misma célula.

Si una persona sana se expone al virus, es poco probable que le cause una infección debido a la naturaleza específica al cáncer de ONCOS-102. Sin embargo, incluso en caso de infección, los síntomas serían leves, principalmente síntomas gripales o gastrointestinales leves.

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 (X) No se sabe (.)

Especifíquese:

En comparación con los adenovirus de tipo salvaje, la patogenicidad, la capacidad de supervivencia y la capacidad de ONCOS-102 de evadir el sistema inmunitario del huésped están reducidas.

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

Los adenovirus humanos se replican únicamente en las células humanas. Se prevé que ONCOS-102 no interactuará con otros organismos debido a las condiciones de la liberación propuesta. La manipulación de ONCOS-102 se limitará al centro hospitalario, incluidos la sala de tratamiento, la farmacia, el laboratorio clínico y la zona para desechos biológicos potencialmente peligrosos.

Se podría originar potencialmente de la dispersión una transmisión secundaria de ONCOS-102. Los pacientes tratados pueden dispersar ONCOS-102 a las aguas del sistema de alcantarillado o en su entorno doméstico. Sin embargo, la dispersión será poco probable ya que rara vez se produjeron casos de transmisiones secundarias transitorias de ONCOS-102 durante el estudio C1. Además, la estabilidad y la capacidad de supervivencia del virus están reducidas en comparación con el virus de tipo salvaje y su infectividad se perderá con rapidez. Se prevé que el virus diseminado o los posibles recombinantes no sean infecciosos para los organismos no humanos.

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: ...

Los profesionales médicos pueden sufrir heridas por punción durante la administración y se pueden exponer a salpicaduras accidentales. Se puede producir una transmisión secundaria en los familiares de los pacientes. La infección sería nociva por ejemplo en huéspedes inmunocomprometidos y neonatos, pero los pacientes y el personal sanitario que pertenecen a los grupos de riesgo serán excluidos de la participación en el estudio.

7. Probabilidad de intercambio genético *in vivo*

(a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

Muy poco probable.

Existe un potencial mínimo de transferencia génica a otras especies con la liberación propuesta del OMG. El OMG se liberará para administrarse a los pacientes en quirófanos de los hospitales y es poco probable que entre en contacto con otras especies animales.

Existe un potencial mínimo de intercambio genético con otros adenovirus humanos de la especie C ya que son endémicos en los seres humanos. Se ha descubierto que la recombinación intercambia fragmentos del genoma dentro de las especies de adenovirus, pero no entre especies.

La oportunidad de recombinación genética con adenovirus animales es probablemente baja, ya que los eventos de recombinación son raros incluso en el entorno *in vitro*.

(b) De otros organismos al OMG:

Muy poco probable.

(c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

ONCOS-102 se ha diseñado para que cualquier resultado de una recombinación genética posible (aunque poco probable) con un virus de tipo salvaje sea más seguro o igual de seguro que el virus de tipo salvaje. A modo de ejemplo, el fragmento de inserción (GM-CSF) hace que ONCOS-102 sea más fácilmente detectado por el sistema inmunitario, produciendo por lo tanto un aclaramiento eficaz del virus recombinado en los seres humanos.

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.)

No hay datos disponibles sobre el comportamiento y las características de ONCOS-102 en los ambientes mencionados.

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

...

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El seguimiento de los efectos directos e indirectos del OMG en todos los pacientes se realizará mediante exploraciones físicas, notificación de los acontecimientos adversos y evaluaciones clínicas de laboratorio durante todo el estudio clínico.

Además, para el análisis de diseminación, se puede determinar la presencia de partículas virales infecciosas en una muestra utilizando un método cualitativo habitual de cultivo de virus.

El método no es específico para ONCOS-102, sino que detecta todos los serotipos de adenovirus de la muestra y los resultados positivos se deben verificar mediante la identificación de ONCOS-102 por RCP cuantitativa u otros métodos. Sin embargo, el método es científicamente sólido y adecuado a estos efectos.

Se puede utilizar un método de RCP cuantitativa sensible y altamente específica para la identificación de modificaciones específicas de ONCOS-102 a partir de muestras de hisopos obtenidas de las superficies de trabajo.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

...

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

Se prevé que ONCOS-102 no se integre en el genoma del huésped. El ADN del vector permanecerá episomal y se eliminará cuando la célula se divida o muera. Además, ONCOS-102 se replica en las células cancerosas humanas pero se ve atenuado en las células normales que no se dividen. Sin embargo, el genoma de ONCOS-102 se puede detectar con métodos de RCP o RCP cuantitativa a partir de otros organismos.

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

No procede: ONCOS-102 se reconstituirá en la farmacia hospitalaria y se administrará a los pacientes mediante inyecciones intratumorales en los quirófanos.

5. Duración del seguimiento

Se realizarán evaluaciones de seguridad durante toda la participación del paciente en el ensayo clínico. Se evaluará la seguridad mediante la recopilación de los acontecimientos adversos (AA) y el control formal de valores de laboratorio previamente especificados, constantes vitales y otras variables relevantes.

El seguimiento de los efectos directos e indirectos de ONCOS-102 en los sujetos se realizará mediante las evaluaciones clínicas definidas en el protocolo del ensayo clínico. Los investigadores del estudio monitorizarán a los pacientes durante todo el tratamiento.

Se utilizará una organización de investigación contratada (CRO) independiente para las actividades de seguimiento del estudio y de gestión de datos. Los acontecimientos adversos graves se notificarán al promotor dentro de los plazos adecuados y, según proceda, a cada una de las agencias reguladoras nacionales de acuerdo con la legislación sobre medicamentos.

6. Frecuencia del seguimiento

Se notificarán todos los acontecimientos adversos que se produzcan durante el estudio, desde el momento en el que el paciente otorga el consentimiento informado hasta que el paciente finaliza el estudio. Se notificará asimismo cualquier AAG que se produzca en los 30 días siguientes a la última administración de ONCOS-102 o pemetrexed/cisplatino (el que se administre el último).

VARIABLES DE SEGURIDAD DE LABORATORIO

Se recogerán de todos los pacientes y durante todo el estudio muestras de sangre y orina para los análisis de las variables de seguridad de laboratorio rutinarias. Los pacientes de la fase de seguridad y los pacientes del grupo experimental de la fase aleatorizada se someterán a análisis de laboratorio rutinarios por la mañana (o durante el día) antes de cada administración de ONCOS-102 y pemetrexed/cisplatino. Los pacientes de la fase de seguridad se someterán asimismo a análisis de laboratorio rutinarios antes del alta los días de administración. Además, se realizarán análisis de laboratorio rutinarios en todos los pacientes (tanto de la fase de seguridad como del grupo experimental de la fase aleatorizada) según proceda para la monitorización apropiada de la seguridad de pemetrexed, cisplatino y ciclofosfamida.

Las muestras de orina se analizarán con tira reactiva para comprobar el pH, la sangre, las cetonas, la proteína y la glucosa. Se realizarán análisis adicionales si el investigador lo considera clínicamente indicado.

Se determinarán las constantes vitales (tensión arterial, pulso, temperatura axilar) y el peso en cada visita, excepto cuando los pacientes acudan únicamente para estudios de imagen o

únicamente para la extracción de muestras de sangre. Los días de administración, se realizarán determinaciones adicionales de las constantes vitales de la siguiente forma:

Pacientes de la fase de seguridad: se monitorizarán las constantes vitales cada hora durante 2 horas después de la inyección, luego cada 2 horas hasta las 8 de la tarde siempre que el paciente esté despierto y una vez la mañana del día siguiente.

Pacientes del grupo experimental de la fase aleatorizada: se monitorizarán las constantes vitales cada hora durante 2 horas.

Pacientes del grupo de control de la fase aleatorizada: no se realizarán determinaciones adicionales de las constantes vitales. No se requieren determinaciones de las constantes vitales los días de las visitas en las que no se administra pemetrexed/cisplatino.

Los pacientes se someterán a una exploración física completa, incluida una revisión de los sistemas corporales importantes en la selección y a intervalos de aproximadamente 21 días. Todos los pacientes se someterán a una exploración física en la visita de fin del estudio.

Los pacientes se someterán a un ECG de 12 derivaciones en la selección. Se podrán realizar ECG adicionales si son clínicamente relevantes en opinión del investigador.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

ONCOS-102 se manipulará principalmente en un laboratorio. La cámara de seguridad biológica se descontamina primero con solución de Barrydín u otro agente de inactivación viral y luego con EtOH al 70 %. Se puede utilizar también luz UV. Las superficies del laboratorio se limpian frotando con un desinfectante de grado hospitalario.

Una vez que el paciente reciba el alta para irse a casa, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Si es factible, los dispositivos de los equipos utilizados para atender a los pacientes se pueden limpiar con solución de Barrydín u otro agente de inactivación viral. Se puede utilizar asimismo un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se limpiarán con agua caliente (>70 °C) y un detergente. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los virus que no se hayan utilizado permanecerán dentro del conjunto de administración cerrado y se eliminarán de acuerdo con la práctica estándar para la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos cortantes y punzantes en el centro del estudio.

Durante el ensayo clínico los viales utilizados y los sobrantes sin utilizar se destruirán en el centro de acuerdo con la práctica del hospital para agentes de bioseguridad de nivel 2 o de acuerdo con las directrices facilitadas.

3. (a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los tipos de desechos biológicos potencialmente peligrosos son: materiales desechables y cortantes y punzantes.

Tanto en la farmacia/laboratorio como en la sala de tratamiento se debe contar con recipientes y bolsas para desechos biológicos potencialmente peligrosos y un recipiente para objetos cortantes y punzantes resistente a la perforación.

El vial de ONCOS-102 utilizado y los componentes del sistema PhaSeal™ se introducirán en un recipiente para desechos biológicos potencialmente peligrosos claramente marcado que posteriormente se eliminará. Los demás materiales desechables, incluidos los desechos plásticos y de papel (tapas de los materiales desechables, paños utilizados y equipos de protección personal) se guardarán en una bolsa para materiales biológicos potencialmente peligrosos etiquetada antes de esterilizarse en autoclave y/o incinerarse.

Tras la administración, el conjunto de administración completo se introducirá en un recipiente para objetos cortantes y punzantes resistente a la perforación y posteriormente se eliminará de acuerdo con la práctica estándar para objetos cortantes y punzantes biológicos potencialmente peligrosos en el centro del estudio.

Al utilizar un dispositivo de transferencia de sistema cerrado para la reconstitución, se minimiza la cantidad de desechos y de procedimientos de manipulación de desechos. Además, se minimiza el riesgo de generación e inhalación de aerosoles.

La cantidad de desechos estimada por tratamiento no es grande: un conjunto de reconstitución/administración, los equipos de protección personal utilizados, los paños y las tapas de los materiales desechables, que no llenarán los recipientes de desechos. Si es posible, se pueden recoger los desechos de diversos tratamientos. En el centro del estudio, esto supondrá su contención temporal en recipientes para objetos cortantes y punzantes o en bolsas para materiales biológicos potencialmente peligrosos, claramente marcados, antes de la esterilización en autoclave y/o la incineración en el centro o fuera del centro conforme a las directrices locales del centro para la manipulación de materiales potencialmente infecciosos.

Todo el equipo utilizado durante el procedimiento se limpiará con un desinfectante químico con actividad virucida durante el tiempo de contacto necesario (especificado por el fabricante). Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se limpiarán con agua caliente (>70 °C) y un detergente.

3. (b) Tratamiento de residuos

Los centros médicos seguirán las prácticas de bioseguridad universales al manipular medicamentos inyectables y desechos médicos. Habitualmente, los procedimientos normalizados de trabajo para la eliminación en los centros médicos serán coherentes con las directrices facilitadas en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, 3.ª Ed. (2004) de la forma indicada a continuación.

Objetos cortantes y punzantes contaminados (infecciosos)

Las agujas hipodérmicas no se deben volver a tapar, cortar ni retirar de las jeringas desechables después de utilizarlas. El conjunto completo debe colocarse en un recipiente de eliminación específico para objetos cortantes y punzantes. Las jeringas desechables, utilizadas con o sin aguja, se introducirán en recipientes de eliminación apropiados y se incinerarán, esterilizándolas previamente en autoclave si fuera necesario. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes serán resistentes a la perforación y no se

llenarán por completo. Cuando estén llenos en sus tres cuartas partes se colocarán en un recipiente de «desechos infecciosos» y se incinerarán, esterilizándolos primero en autoclave si la práctica del laboratorio lo exige. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes no se desecharán en vertederos.

Material contaminado (potencialmente infeccioso) para ser tratado en autoclave:

Aparte de los objetos cortantes y punzantes mencionados más arriba, todo el material contaminado (potencialmente infeccioso) debe ser introducido en recipientes impermeables (por ejemplo en bolsas de plástico para materiales biológicos potencialmente peligrosos que resistan el tratamiento en autoclave) y tratado en autoclave antes de proceder a su eliminación. Después de pasar por la autoclave, el material puede colocarse en recipientes apropiados para ser transportado al incinerador. Si es posible, el material procedente de actividades relacionadas con la atención sanitaria no debe desecharse en vertederos, ni siquiera después de haber sido descontaminado. Si se dispone de un incinerador en el laboratorio, no es necesario el tratamiento en autoclave: el material contaminado se coloca en recipientes especialmente marcados (por ejemplo, bolsas para materiales biológicos potencialmente peligrosos) y se transporta directamente al incinerador.

No se deben utilizar recipientes de transporte reutilizables.

Otro material contaminado (potencialmente infeccioso):

Tras la preparación y la administración de ONCOS-102, la cámara de seguridad biológica se debe descontaminar, primero con un desinfectante químico con actividad virucida y luego con EtOH al 70 %. Las superficies de trabajo en la farmacia se deben descontaminar con un desinfectante químico con actividad virucida tras la preparación y la administración de ONCOS-102. Cuando se administre el producto o cuando se produzcan derrames y roturas accidentales, se deben seguir las precauciones anteriormente descritas.

Las superficies ambientales, las habitaciones del hospital, las consultas en las que se atiende a los pacientes y los dispositivos de los equipos utilizados para atender a los pacientes se deben limpiar de forma rutinaria con un desinfectante de grado hospitalario. Una vez que el paciente reciba el alta para irse a casa, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se limpiarán con agua caliente (>70 °C) y un detergente. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

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

Accidentes oculares con ONCOS-102

En caso de exposición ocupacional accidental a través de una salpicadura en los ojos, quítese los guantes protectores que pueden estar contaminados y aclárese los ojos con colirio o agua limpia durante al menos 15 minutos. Acuda a un médico por si presenta signos de infección sistémica (principalmente síntomas seudogripales o gastrointestinales leves y fiebre) o signos de infección local (p. ej., dolor, enrojecimiento e hinchazón).

Heridas por punción y cortes

Se ha demostrado que el uso seguro de las agujas previene las heridas por punción y cortes. Los procedimientos normalizados de trabajo para la eliminación de agujas contaminadas en los centros médicos serán coherentes con las directrices facilitadas en el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio de la OMS, 3.ª Ed. (2004).

En caso de exposición por punción con aguja, quítese los guantes protectores y compruebe si se ha perforado la piel. Limpie bien la zona con un desinfectante virucida como solución de Barrydin al 2 %. En caso de perforación en la piel, frote la zona además con una solución antiséptica y una gasa de algodón estéril. Acuda a un médico por si presenta signos de infección sistémica (principalmente síntomas seudogripales o gastrointestinales leves y fiebre) o signos de infección local (p. ej., dolor, enrojecimiento e hinchazón).

Salpicaduras sobre la piel o las mucosas

Todo el personal que manipule el virus o el material contaminado con ONCOS-102 debe seguir las precauciones de seguridad; deben llevar puesta una bata de laboratorio, cubre-mangas y guantes. Ningún miembro del personal del estudio (p. ej., farmacéuticos, radiólogos, enfermeros) con heridas abiertas en la piel debe entrar en contacto directo con ONCOS-102.

En caso de exposición de la piel sana, limpie la zona con un papel absorbente humedecido con desinfectante virucida como solución de Barrydin al 2 % o hipoclorito de sodio al 1 % o Virkon[®] y aclare la zona con agua limpia durante al menos 15 minutos. En caso de exposición de las mucosas, aclare la zona con agua limpia durante al menos 15 minutos. Acuda a un médico por si presenta signos de infección sistémica (principalmente síntomas seudogripales o gastrointestinales leves y fiebre) o signos de infección local (p. ej., dolor, enrojecimiento e hinchazón).

En caso de salpicaduras en la ropa, quítese la ropa contaminada: rocíela con solución de Barrydin al 2 % para inactivar el OMG. Ponga la ropa de un solo uso y el equipo de protección en el recipiente para desechos biológicos potencialmente peligrosos y asegúrese de que se laven correctamente las demás prendas.

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

En caso de derrame sobre superficies, asegúrese de que ninguna persona de fuera se exponga a la solución. En caso necesario, advierta a las demás personas que trabajan en el mismo lugar. Lleve siempre puesta la indumentaria protectora necesaria (bata de laboratorio, guantes protectores). Absorba el líquido con papel absorbente u otro paño desechable e introdúzcalo en una bolsa para desechos biológicos potencialmente peligrosos que se pueda esterilizar en autoclave. Frote la zona contaminada, primero con una cantidad apropiada de desinfectante virucida como solución de Barrydin al 2 % o hipoclorito de sodio al 1 % o Virkon[®] y posteriormente frótela con etanol al 70 %. Lávese y desinféctese las manos con cuidado, primero con jabón para manos y luego con una solución desinfectante para manos. Deseche los equipos de protección personal utilizados y los desechos contaminados conforme a los procedimientos locales.

Diseminación del OMG por una zona extendida

En caso de derrame sobre superficies o rotura de un vial, aisle el lugar del accidente (cierre la puerta con llave y coloque una advertencia fuera del lugar informando del accidente). Asegúrese de que ninguna persona de fuera se exponga a la solución. Salga del cuarto durante 30 minutos. Lleve siempre puesta la indumentaria protectora necesaria (bata de

laboratorio, guantes protectores, gafas y mascarilla) al volver para limpiar el derrame. Cubra el derrame con papel absorbente o con paños desechables. Comience por el exterior de la superficie y vaya hacia el centro. Vierta el desinfectante virucida como solución de Barrydín al 2 % o hipoclorito de sodio al 1 % o Virkon[®] sobre el papel absorbente comenzando por el exterior de la superficie y procediendo hacia el centro. Deje que el desinfectante surta efecto durante un tiempo de contacto suficiente. Retire el papel absorbente y los posibles viales rotos con un utensilio para agarrar, como unas pinzas. Introduzca el papel absorbente en una bolsa para desechos biológicos potencialmente peligrosos que se pueda esterilizar en autoclave y el vial roto en el recipiente para desechos biológicos potencialmente peligrosos cortantes y punzantes, si es posible. Frote la zona contaminada con una cantidad apropiada de desinfectante virucida seguido de etanol al 70 %. Si no se puede frotar la superficie, rocíe la zona uniformemente con el desinfectante y aclare el desinfectante rociando etanol al 70 %. Deposite los equipos de protección personal utilizados y otros desechos contaminados en la bolsa para desechos biológicos potencialmente peligrosos y deséchela conforme a las directrices locales del centro.

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 procede.

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

El personal de hospital y el promotor del estudio registrarán y evaluarán todos los acontecimientos adversos que se produzcan durante el estudio y los notificarán a las autoridades sanitarias si procede.

Los potenciales efectos directos en la salud humana se limitan a la transmisión de ONCOS-102 a un receptor humano no diana. Se espera que estos potenciales efectos adversos sean los mismos que los que se esperan en los pacientes que reciben el tratamiento, aunque de intensidad mucho menor.

Los potenciales efectos indirectos de la liberación se limitan a las consecuencias de la diseminación de ONCOS-102 desde el lugar de inyección, la diseminación del virus o la liberación del adenovirus de tipo salvaje o de variantes genéticas mediante la contaminación del producto durante la fabricación o tras recombinarse en las células del receptor, siendo todos estos casos muy poco probables.

Si se produjera una diseminación, se prevé que la exposición sería transitoria y el número de partículas virales sería bajo en comparación con las dosis recibidas por los pacientes en el ensayo propuesto. Además, es probable que las personas expuestas hayan sido previamente inmunizadas con el adenovirus de tipo salvaje. Por lo tanto, los riesgos para la salud pública con ONCOS-102 son extremadamente escasos.

En caso de un efecto no deseado, las decisiones de tratamiento se deben individualizar y tomar caso por caso. Ya que no hay ningún tratamiento específico para la infección por adenovirus, los receptores humanos expuestos de forma no intencionada y los pacientes con reacciones adversas pueden recibir tratamiento de apoyo y sintomático para aliviar los síntomas. Por ejemplo, la pirexia, que es la reacción adversa más frecuente, se puede controlar con éxito con paracetamol (acetaminofeno) o ibuprofeno. Además, se han utilizado diversos medicamentos, como cidofovir, ribavirina, ganciclovir y vidarabina, para tratar las

infecciones por adenovirus, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. Además, clorpromazina y apigenina han demostrado prevenir la replicación del adenovirus (Kanerva, Raki, Ranki et al. 2001).

Los efectos potenciales en el medio ambiente podrían ser la diseminación de ONCOS-102 al medio ambiente o la transferencia del material genético insertado a un virus animal. Se prevé que el virus diseminado o los posibles recombinantes no sean infecciosos para los organismos no humanos. Las consecuencias de la exposición al medio ambiente son, por lo tanto, menores. El riesgo de que ONCOS-102 represente un efecto no deseado en el medio ambiente es muy escaso.

Se toman las precauciones indicadas a continuación para proteger la salud humana y el medio ambiente:

Diseño del constructo viral

Se han incorporado múltiples características de seguridad en ONCOS-102. La posibilidad de creación de variantes genéticas estables con características no deseadas se minimiza con el diseño del constructo genético de ONCOS-102.

Control de la liberación

Únicamente se suministrará ONCOS-102 a los centros del estudio autorizados, donde un farmacéutico cualificado con formación específica sobre el protocolo será responsable de la recepción del material, de la conservación, de la documentación de la trazabilidad del producto en el centro de investigación, de la reconstitución el día de la administración y de la eliminación. Los profesionales médicos formados administrarán ONCOS-102 a los sujetos, de acuerdo con el protocolo del ensayo clínico.

La fabricación, el suministro y la trazabilidad de ONCOS-102 se controlarán y monitorizarán de acuerdo con la normativa sobre medicamentos.

El producto se conservará antes de la administración en un congelador con la temperatura controlada a -60°C o inferior en la farmacia o en otro lugar seguro apropiado.

El medicamento en investigación no se distribuirá a ninguna persona fuera de los términos y condiciones establecidos en el protocolo del ensayo clínico. El investigador o la persona designada deben prescribir el medicamento del estudio y no se puede utilizar para ningún otro fin que no sea el descrito en el protocolo del ensayo clínico.

Precauciones durante el transporte

En el manual de la cadena de suministro de ONCOS-102, se describen las instrucciones para el transporte, la recepción y la conservación seguros de ONCOS-102. La ficha de datos de seguridad del material de ONCOS-102 incluye las instrucciones para la gestión de derrames y se incluye con todos los envíos.

Para el transporte de ONCOS-102, el envase debe tener una etiqueta visible que indique "Organismo modificado genéticamente" o "Este producto contiene un organismo modificado genéticamente". Este texto debe aparecer asimismo en los documentos acompañantes durante el transporte.

Targovax ha suscrito un contrato con World Courier con respecto al transporte de ONCOS-102 en condiciones de temperatura controlada y de acuerdo con la normativa relativa a mercancías peligrosas de la Asociación de Transporte Aéreo Internacional (IATA). ONCOS-102 se transportará en nieve carbónica. En cuanto al transporte del medicamento reconstituido desde la farmacia a la sala de tratamiento, las directrices de manipulación de ONCOS-102 contienen las instrucciones sobre el etiquetado y envasado de la dosis preparada

en un recipiente de plástico hermético, designado para las jeringas de administración de ONCOS-102 y marcado con un pictograma de peligro biológico para el transporte al lugar de administración. El transporte va acompañado de un kit de descontaminación separado por si se produjera un derrame durante el transporte.

Precauciones de manipulación y administración

En las directrices de manipulación de ONCOS-102, entregadas al centro del estudio por Targovax, se proporcionan las precauciones de uso. Únicamente los profesionales formados se encargarán de la administración en las instalaciones de un centro del estudio autorizado. Durante la preparación y la administración del medicamento se deben seguir las directrices del centro sobre la manipulación, el equipo de protección personal, los derrames accidentales y la eliminación de desechos.

En caso de exposición accidental, se recomienda documentar la cadena de eventos de la forma más precisa posible (p. ej. la cantidad de ONCOS-102 y las personas implicadas, la hora y el lugar donde se produjo el accidente) a fin de permitir una reevaluación posterior.

Las exposiciones accidentales se notificarán de acuerdo con la normativa local. Además, Targovax facilita al centro del ensayo clínico otro formulario para la notificación de accidentes (CLIN-DOC-0680 instrucción de notificación para exposiciones accidentales).

Etiquetado del producto

El etiquetado y la información del producto contienen información esencial para minimizar el riesgo de exposición a una persona no diana o al medio ambiente.

Las directrices de manipulación de ONCOS-102 contienen las instrucciones sobre el etiquetado y envasado de la dosis preparada en un recipiente de plástico hermético, designado para las jeringas de administración de ONCOS-102 y marcado con un pictograma de peligro biológico para el transporte al lugar de administración.

Inactivación

Los adenovirus de tipo salvaje son resistentes a los desinfectantes lipídicos, pero se inactivan con formaldehído y cloro. Se produce una inactivación variable asimismo con yodo y luz UV. El ADN viral se puede detectar mucho después de haberse destruido la infectividad. Las modificaciones genéticas de ONCOS-102 no interfieren en la sensibilidad a la inactivación física y química.

Las superficies de trabajo se deben descontaminar con un desinfectante químico con actividad virucida y EtOH al 70 % antes y después de la preparación y la administración de ONCOS-102.

Inactivación física: el adenovirus de tipo salvaje se puede inactivar con calor. Si se calienta a temperaturas $>56\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos o se esteriliza en autoclave, se destruirá la infectividad.

Inactivación química: el adenovirus se puede inactivar mediante el contacto con una dilución 1:5 de lejía durante 1 minuto o el contacto con geles para manos con base de alcohol durante 2 minutos. El alcohol etílico, a concentraciones del 60 % al 80 %, es un agente virucida potente que inactiva todos los virus lipofílicos y muchos virus hidrofílicos. El fabricante recomienda solución de Barrydin al 2,0 % durante 60 minutos o solución de Barrydin al 4,0 % durante 30 minutos para una desinfección en un tiempo breve. Se propone Virkon[®] S líquido al 0,9 % para procedimientos de descontaminación de los adenovirus de tipo 5 y 6 con tiempos de contacto superiores a cinco minutos.

Comunicación de riesgos y precauciones

Los materiales facilitados a los sujetos contienen información esencial para minimizar el riesgo de transmisión a una persona no diana.

Las directrices de manipulación de ONCOS-102 contienen información que incluye: precauciones e instrucciones para la manipulación del adenovirus modificado genéticamente, una descripción del método y el equipo de protección personal que se debe utilizar, las acciones a tomar tras una exposición accidental, descripciones de los síntomas principales de la infección por adenovirus, indicando que se debe informar a un profesional médico si se presentan síntomas.

Actividades de seguimiento

El protocolo del ensayo clínico requiere que los seis pacientes incluidos en la fase de seguridad ingresen en el hospital para observación durante 24 horas (hospitalización previamente programada) tras cada administración de ONCOS-102.

El seguimiento de los efectos directos e indirectos de ONCOS-102 en los sujetos se realizará mediante las evaluaciones clínicas definidas en el protocolo del ensayo clínico. Los investigadores del estudio monitorizarán a los pacientes durante todo el tratamiento.

Se utilizará una organización de investigación contratada (CRO) independiente para las actividades de seguimiento del estudio y de gestión de datos. Los acontecimientos adversos graves se notificarán al promotor dentro de los plazos adecuados y, según proceda, a cada una de las agencias reguladoras nacionales de acuerdo con la legislación sobre medicamentos.

Se determinarán las constantes vitales en cada visita.

Los análisis de laboratorio (hematología, bioquímica y análisis de orina) se realizarán en ciertos puntos temporales.

Reseñas bibliográficas

Flomenberg, P. (2009). Adenovirus infections. *Medicine*, 37(12), 676-678.

Fueyo, J., C. Gomez-Manzano, R. Alemany, P. S. Lee, T. J. McDonnell, P. Mitlianga, Y. X. Shi, V. A. Levin, W. K. Yung and A. P. Kyritsis 2000. "A mutant oncolytic adenovirus targeting the Rb pathway produces anti-glioma effect in vivo." *Oncogene*. 19: 2-12.

Harui, A., Suzuki, S., Kochanek, S., Mitani, K. (1999). Frequency and stability of chromosomal integration of adenovirus vectors.

Kanerva, A., K. R. Zinn, K. W. Peng, T. Ranki, L. Kangasniemi, T. R. Chaudhuri, R. A. Desmond, M. Wang, K. Takayama, T. Hakkarainen, H. Alfthan, U. H. Stenman, D. T. Curiel and A. Hemminki (2005). Noninvasive dual modality in vivo monitoring of the persistence and potency of a tumor targeted conditionally replicating adenovirus. *Gene Ther.* 12: 87-94.

Kanerva A, Raki M, Ranki T, Särkioja M, Koponen J, Desmond RA, Helin A, Stenman UH, Isoniemi H, Höckerstedt K, Ristimäki A, Hemminki A. (2007). Chlorpromazine and apigenin reduce adenovirus replication and decrease replication associated toxicity. *J Gene Med.* 2007 Jan;9(1):3-9.

Liikanen, I., Ahtiainen, L., Hirvonen, M., Bramante, S., Cerullo, V., Nokisalmi, P., Hemminki, O., Diaconu, I., Pesonen, S., Koski, A., Kangasniemi, L., Pesonen SK., Oksanen,

M., Laasonen, L., Partanen, K., Joensuu, T., Zhao, F., Kanerva, A., and Hemminki, A. (2013) Oncolytic Adenovirus with Temozolomide Induces Autophagy and Antitumor Immune Responses in Cancer Patients. *Molecular Therapy* (2013); 21 6, 1212–1223.

Maheshwari, G., Jannat, R., McCormick, L., Hsu, D. (2004) Thermal inactivation of adenovirus type 5. *J Virol Methods*. Jun 15;118(2):141-6.

McCormick, L., Maheshwari, G. Inactivation of adenovirus types 5 and 6 by Virkon. (2004). *Antiviral Research* 64: 27–33.

Norking, L.C. (2010). Adenoviruses. In Norking, L.C *Virology: Molecular Biology and Pathogenesis*. ASM Press

Ranki T., Joensuu, T., Jäger, E., Karbach, J., Wahle, C., Kairemo, K., Alanko, T., Partanen, K., Turkki, R., Linder, N., Lundin, J., Ristimäki, A., Kankainen, M., Hemminki, A., Backman, C., Dienel, K., von Euler, M., Haavisto, E., Hakonen, T., Juhila, M., Jäderberg, M., Priha, P., Vassilev, L., Vuolanto, A., Pesonen, S. (2014) Local treatment of a pleural mesothelioma tumor with ONCOS-102 induces a systemic antitumor CD8+ T-cell response, prominent infiltration of CD8+ lymphocytes and Th1 type polarization. *OncoImmunology*, 2014 Volume 3, Issue 10.

Robinson, C., & Echavarría, M. (2007). Adenoviruses. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1589) ASM Press.

Robinson, C., & Echavarría, M. (2007). Adenoviruses. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1589) ASM Press.

Vassilev, L., T Ranki, T Joensuu, E Jäger, J Karbach, C Wahle, K Partanen, K Kairemo, T Alanko, R Turkki, N Linder, J Lundin, A Ristimäki, M Kankainen, A Hemminki, C Backman, K Dienel, M von Euler, E Haavisto, T Hakonen, J Juhila, M Jäderberg, P Priha, A Vuolanto & S Pesonen. (2015). Repeated intratumoral administration of ONCOS-102 leads to systemic antitumor CD8+ T-cell response and robust cellular and transcriptional immune activation at tumor site in a patient with ovarian cancer. *OncoImmunology* Accepted author version posted online: 01 Apr 2015.