

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación: España
b) Número de la notificación: B/ES/16/06
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: 29-04-2016
d) Título del proyecto: Ensayo clínico en fase I con un virus oncolítico DNX-2401 para gliomas difusos de protuberancia recién diagnosticados en pacientes pediátricos
e) Período propuesto para la liberación: 1 septiembre 2016 a 1 septiembre 2018

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: Clínica Universidad de Navarra

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	X
	Bacteria	<input type="checkbox"/>
	Hongo	<input type="checkbox"/>
	Animal	<input type="checkbox"/>
	- mamíferos	<input type="checkbox"/>
	- insectos	<input type="checkbox"/>
	- peces	<input type="checkbox"/>
	- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		
b) Identidad del OMG (género y especie) Genero: Mastadenovirus Especie: human adenovirus El OMG (DNX-2401) es un adenovirus oncolítico, cuya replicación es selectiva para células tumorales. Su genoma contiene dos modificaciones genéticas con respecto a la forma salvaje del adenovirus (Ad5).		

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

El análisis de la secuencia genómica completa y el análisis de estabilidad de la delección de 24 pares de bases en la región adenoviral E1a se llevó a cabo mediante qPCR basada en TaqMan® en el Banco Maestro de Virus (Master Viral Bank) y en el producto bruto filtrado y purificado (Purified Filtered Bulk Product). En el Banco Maestro de Virus y sobre el producto final en viales, se realizó un análisis de comparación de bandas de peso molecular conocidas en electroforesis en un gel de agarosa tras digestión restrictiva y análisis de peso molecular.

Se determinó que el límite de detección de la técnica de qPCR era <15 copias de Ad5E1A del tipo salvaje en 3×10^4 pv/reacción, lo cual es equivalente a menos de 1 copia de Ad5E1A del tipo salvaje por cada 2000 copias de Ad5-Delta24-RGD. El test fue válido con una $R_2=0,998$ y los valores de Ct para los tres controles negativos fueron >40. No se detectó ADN de E1a del tipo salvaje en el Producto Viral Final tras analizar las pruebas por triplicado (no hubo amplificación más allá del umbral de fluorescencia $Ct > 40$). Una revisión de la amplificación indicó que no hubo amplificación inicial por debajo del umbral en ninguno de los tres test repetidos. Por lo tanto la ausencia de copias salvajes de E1A y por ello, de adenovirus salvaje, fue confirmada en tres test independientes de tres muestras del OMG (producto final tras el filtrado del producto bruto), con una sensibilidad de 1:2.000

Los adenovirus han demostrado ser muy estables tanto en la naturaleza como en el laboratorio. Los adenovirus modificados son estables cuando el total del genoma no supera el 105% del de la forma salvaje. En este caso es menos del 101%.

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

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

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: ES - Número de la notificación: B/ES/13/18	

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

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

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación (otro notificador): Holanda
- Número de la notificación: B/NL/08/008
- Estado miembro de la notificación: Estados Unidos
- Número de la notificación: NCT00562003 y NCT00805376 (ClinicalTrials.gov Identifiers)

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

El impacto medio ambiental potencial del OMG es menor.

No podemos excluir que el OMG se disemine del receptor primario tras la inyección intracerebral, aunque es improbable. Si esto ocurriera, el virus podría infectar las células del tracto respiratorio superior, al igual que lo hace la forma salvaje.

La modificación de tropismo para infectar en el OMG es irrelevante, ya que la forma salvaje ya es muy eficiente en este aspecto. El OMG tiene propiedades para replicar específicamente en células tumorales y no se replicará en células sanas de un segundo receptor, por lo que se previene la diseminación. La posible toxicidad en las células de un receptor secundario sería menor que la toxicidad de la forma salvaje, que ya es un patógeno poco agresivo.

Teóricamente, el OMG se podría recombinar con la forma salvaje en un receptor infectado por ambos virus, pero es muy improbable encontrarnos con esta situación en la práctica. La imposibilidad del OMG para replicar fuera de células tumorales hacen que esta teórica recombinación sea casi imposible. Aún así, suponiendo que la recombinación tuviera lugar, la transmisión de este nuevo OMG ocurriría mediante la infección del tracto respiratorio similar al adenovirus salvaje, causando los mismos síntomas leves y siendo autolimitada.

No se han observado variantes recombinantes del HAd5 con otros tipos de adenovirus.

Debido a la alta especificidad de huésped del HAd5, la transmisión a otras especies no humanas es altamente improbable.

Los adenovirus no se integran en el ADN del huésped, por lo que no es posible su transmisión al genoma del huésped ni la transmisión a la descendencia.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

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

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Adenoviridae
ii) Género: Mastadenovirus
iii) Especie: Adenovirus humano
iv) Subespecie: Adenovirus subgrupo C
v) Cepa: Adenovirus humano salvaje serotipo 5
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: HAd5

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

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

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

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

Sí No

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

Sí No

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

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

HAd5 no se encuentra en ecosistemas naturales ya que necesita células humanas para reproducirse. La especificidad del HAd5 hace que replique solo en células de humanos y muy pocas especies más. Se ha descrito que otras especies son semi-permisivas para el agente, como las ratas alodoneras (*Sigmodon hispidus*), los cerdos (*Sus scrofa*), los chimpancés (*Pan troglodytes*) y algunos tipos de hámster (*Mesocricetus auratus*), pero no se ha detectado la presencia del adenovirus humano serotipo 5 de forma natural en estas especies. Aproximadamente el 70% de la población humana es seropositiva para el adenovirus, indicando exposición al mismo y se encuentra ampliamente distribuida por todas las poblaciones.

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

No aplica

5.a) Técnicas de detección

La detección de las partículas adenovirales se lleva a cabo mediante PCR a tiempo real (RT- PCR) a partir de ADN obtenido directamente del tejido/órgano a estudio y utilizando oligonucleótidos que amplifican la región genómica del virus. La detección de partículas infecciosas se hace mediante ensayos tipo *plaque assays*, en los que se examina la capacidad de formación de calvas en monocapas de células humanas.

5.b) Técnicas de identificación

La identificación específica de una cepa de adenovirus se consigue analizando la presencia ADN genómico viral por técnicas de amplificación por PCR con oligonucleótidos de secuencia definida complementaria y también por análisis de restricción enzimática del ADN purificado.

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

No

En caso afirmativo, especifíquese:

En cuanto a la clasificación del riesgo, el HAd5 está clasificado como agente biológico con un nivel de bioseguridad de tipo 2. Un agente biológico del grupo 2 se describe como aquél que puede causar una enfermedad en el hombre y puede suponer un peligro para los trabajadores, siendo poco probable que se propague a la colectividad y existiendo generalmente profilaxis o tratamiento eficaz.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:</p> <p style="padding-left: 20px;">humanos <input checked="" type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 20px;">animales <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 20px;">plantas <input type="checkbox"/></p> <p style="padding-left: 20px;">otros <input type="checkbox"/></p>		
<p>b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.</p> <p>Se han aislado más de 50 serotipos de adenovirus humanos diferentes (Ad) que varían en su potencial patogénico.</p> <p>Los adenovirus del subgrupo C, que incluye el tipo 5 pueden ser asintomáticas o causar enfermedades leves del sistema respiratorio, ocular y gastrointestinal, especialmente en niños. El periodo de incubación de la enfermedad es de 1 a 10 días. Puede producirse excreción intestinal del virus y se ha descrito infección latente en amígalas y vegetaciones. Sin embargo, el resultado habitual de la infección es la generación de inmunidad duradera contra el serotipo concreto. La exposición a los adenovirus del grupo C es muy amplia y la mayoría de la población es seropositiva para este tipo. En los adultos inmunocompetentes las infecciones con Ad5 son habitualmente asintomáticas y autolimitadas.</p> <p>Los adenovirus humanos no afectan a otros animales, no se han demostrado enfermedades en animales por serotipos humanos de adenovirus.</p> <p>Los adenovirus son virus no integrativos en el genoma, no integran material genético en el huésped.</p> <p>A pesar de los esfuerzos de diversos grupos de investigación, no ha sido posible crear ratones transgénicos por medio de la inyección directa de adenovirus en los testículos.</p>		

8. Información sobre reproducción

<p>a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:</p> <p>El HAd5 no se encuentra en ecosistemas naturales, solo en células humanas. En células tumorales se replica en unas 24 hs.</p>
<p>b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:</p> <p>En células tumorales, el OMG replica a un ritmo similar al de la forma salvaje de HAd5. En células normales su capacidad de replicación está fuertemente inhibida.</p>
<p>c) Modo de reproducción</p> <p style="text-align: center;">Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input type="checkbox"/></p> <p>No Aplica</p>
<p>d) Factores que afectan a la reproducción:</p> <p>La capacidad de reproducción está reducida en comparación con la del HAd5,</p>

debida a la modificación Delta24 de la región E1A. Esta modificación limita la capacidad de la proteína E1A codificada por el adenovirus de unirse a las proteínas de la familia pRB (proteína de retinoblastoma). De esta forma, se evita que se libere E2F del complejo E2F-pRB, lo cual previene la activación de los genes adenovirales y los genes encargados de la síntesis de ADN y la progresión a través del ciclo celular. En consecuencia, el OMG es incapaz de inducir a la célula huésped a sobrepasar el punto de control G2/M y solo se puede replicar en las células con una alteración en la vía pRb.

Un defecto en la vía pRb es un marcador tumoral y no se han descrito alteraciones de dicha vía en células sanas. Por lo tanto, el OMG muestra una capacidad de replicación fuertemente reducida en las células quiescentes humanas en comparación con el adenovirus salvaje tipo 5.

9. Capacidad de supervivencia

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

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

Ninguna

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los adenovirus pierden su bioactividad rápidamente a temperatura ambiente. El HAd5 es sensible a hipoclorito de sodio al 1%, al glutaraldehído 2% y dodecilsulfato sódico (SDS) al 0,25%. Es sensible al calor (>56°C). La mejor vía de inactivación del HAd5 es mediante autoclave a 121°C durante 15 minutos; los desinfectantes convencionales (lejía, jabón o similar) también son efectivos contra el HAd5 si están en contacto durante 20-30 minutos. En congelación el virus se puede mantener durante años.

10.a) Vías de diseminación

La vía común de transmisión del HAd5 es mediante inhalación o contacto con los ojos de aerosoles producidos por tos o estornudos de las personas afectadas. Bajo condiciones de humedad y contacto cercano la transmisión es eficaz. También es posible la transmisión de adenovirus por la ruta oro-fecal pero esta vía de

transmisión requiere contacto íntimo in es muy inusual. La infección tras contacto casual tras la administración entérica es improbable incluso con adenovirus plenamente virulentos. Aparte de humanos y chimpancés, no es posible la infección en otros huéspedes.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Los factores que afectan a la diseminación son la dosis emitida, la producción de aerosoles y la proximidad/intimidad del contacto.

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)

No aplica

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El OMG contiene el genoma completo del HAd5 con las siguientes dos modificaciones:
primera una delección de 24 pares de bases (Delta24) introducida en el dominio CR2 de unión a pRb del gen de la proteína E1A. Esta modificación consigue que la replicación viral sea imposible en células normales con la proteína Rb intacta. Como resultado el OMG presenta una replicación selectiva para las células con una alteración en la vía pRb, frecuente en células tumorales.
Segunda , se ha insertado en la gen de la fibra viral, una secuencia corta que codifica el péptido RGD-4C, que es un ligando de integrinas. Esta modificación permite la infección viral de una célula través de su unión de alta afinidad a varios tipos de integrinas. Como resultado, aquellas células que no muestran receptores para el

HAd5 pero sí estas integrinas pueden ser infectadas por el OMG. Las células de glioblastoma muestran ambas características para las que ha sido diseñado el OMG: alteración en la vía pRb y baja expresión de receptores para adenovirus pero alta de integrinas. El OMG está diseñado para replicarse eficiente y selectivamente en las células de glioblastoma del cerebro de los pacientes a los que se les inyecte el OMG, matando así eficazmente a las células tumorales.

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

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

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: El OMG está realizado a partir de un vector de plásmido pVK526 (Suzuki et al., Clin. Cancer Res. 7, 120-126, 2001). Este plásmido contiene un origen bacteriano de replicación, un gen resistente a la ampicilina y el genoma completo del HAd5 con las siguientes dos modificaciones: -Una delección de 24 pares de bases (Delta24) en el dominio CR2 de unión a pRb del gen de la proteína E1A. - Una secuencia corta que codifica para un ligando de integrinas, el péptido RGD-4C, insertado en la gen de la fibra viral.	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción: Secuencia sintética de ADN que codifica para una unidad cíclica RGD-4C.
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: Sintética
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG Ampliar la infectividad del OMG en células humanas que tienen baja expresión de receptores con alta afinidad para adenovirus pero alta expresión en integrin.
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/> - Otros especifíquense): integración en el ADN viral, en el gen ORF de la fibra.
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan? Sí <input type="checkbox"/> No X En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

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

- otro animal (especifique el phylum y la clase):

Otros (especifíquense): ADN sintético (D2 a D5 no aplican)

2. Nombre completo

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:

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

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

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

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

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

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No X	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí X	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>Especifíquese: Debido a la modificación Delta24, el OMG no se puede replicar en células normales quiescentes con la vía Rb intacta. Por lo que la reproducción viral en las células sanas es reducida con respecto al HAd5. La modificación RGD-4C amplía el tropismo de infectividad del virus. Células que no expresan receptores con alta afinidad para el HAd5, pero que expresan ciertos tipos de integrinas pueden ser infectadas por el OMG. Esta modificación potencialmente podría aumentar la reproducción del OMG comparado con el HAd5. Sin embargo, la ampliación de la infectividad secundaria a la modificación RGD-4C no afecta a la atenuación de la replicación secundaria a la modificación Delta-24. Las células normales que no presentan receptores con alta afinidad para la forma salvaje de HAd5, pero sí integrinas, podrían ser infectadas por el OMG, pero el OMG no se replicaría en dichas células si no se están dividiendo. Por tanto, la modificación RGD-4C se considera que no aumenta la tasa de reproducción. En resumen, la reproducción del OMG es reducida en comparación con la de HAd5.</p>		

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?
Sí No No se sabe

Especifíquese: La transmisión horizontal del OMG puede ocurrir por la vía de transmisión natural del HAd5, es decir, mediante aerosoles generados de la tos o del estornudo por vía inhalatoria o por los ojos. Dado que su transmisión es muy eficaz por la vía natural de los receptores de HAd5, la modificación RGD-4C es irrelevante en este aspecto. Sin embargo, la modificación Delta-24 atenúa la replicación viral en células normales reduciendo la diseminación desde receptores secundarios. Por tanto, si el OMG es liberado al ambiente se puede esperar que la transmisión horizontal a segundos receptores sea similar a la del HAd5 salvaje, pero por su replicación atenuada desaparecería, reduciendo la diseminación posterior.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?
Sí No No se sabe

Especifíquese:

Debido a la modificación Delta-24, el OMG no se puede replicar en células quiescentes normales con la vía Rb intacta. Por tanto la replicación y el tropismo del OMG es menor que el del virus salvaje HAd5. La baja patogenicidad característica del HAd5 se ve aún más reducida.

La modificación RGD-4C aumenta el tropismo del virus, por lo que células que no expresan receptores de alta afinidad para el adenovirus y difícilmente son infectadas por él, pero expresan ciertos tipos de integrinas podrían ser infectadas por el OMG. Esta modificación podría potencialmente aumentar la patogenicidad del OMG comparada con la forma salvaje de HAd5. La administración sistémica de altas dosis de OMG en ratas algodóneras no mostró una biodistribución alterada respecto a un virus de control sin la alteración RGD-4C. Un ensayo clínico realizado en cáncer de ovario con administración intraperitoneal del virus tampoco encontró cambios en cuanto a la biodistribución. Por lo tanto, aparentemente, el virus no alcanza en tejidos sanos a células que no expresan receptores naturales para el HAd5 pero sí integrinas que podrían unirse a la porción RGD-4C y aumentar la entrada del virus en la célula.

El OMG no es por tanto considerado como más patogénico que la forma salvaje de HAd5 en células y tejidos sanos quiescentes que pueden ser alcanzados por el virus mediante el sistema circulatorio.

Es importante señalar, que la ampliación de la infectividad gracias a la modificación RGD-4C no afecta a la atenuación de la replicación por la modificación Delta-24. Las células normales en división que no presentan receptores de alta afinidad para el adenovirus pero que expresan integrinas para la unidad RGD-4C podrían sufrir una infección por el OMG, pero el virus no replicaría. Ensayos en animales y ensayos clínicos realizados hasta el momento, no se ha encontrado infección por el OMG en las células normales en división.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El OMG es estable. El OMG se produce en la línea celular A549. Se estudió la presencia en el banco celular maestro (Master cell bank) de un abanico de contaminantes virales incluyendo el HAd5 mediante qPCR para la proteína E1A y genes del hexón, y no se encontró contaminación. Se excluye así que pudiera ocurrir la complementación o la recombinación con la forma salvaje de la proteína E1A durante la propagación del OMG en las células A549. Se llevó a cabo análisis de la secuencia genómica completa y de la estabilidad genética de la delección de 24 bases de la región adenoviral E1A, mediante qPCR basada en TaqMan® tanto en el Banco Maestro de Virus (Master Viral Bank) como el producto en bruto filtrado y purificado (Purified Filtered Bulk Product). La ausencia de copias salvajes de E1A y por tanto, de adenovirus salvaje, fue confirmada en tres muestras independientes de producto final filtrado bruto del OMG, con una sensibilidad de 1:2.000 (ver A3c). El OMG tiene un tamaño genómico menor de 101% del tamaño del virus salvaje; los adenovirus modificados son estables cuando el total del genoma no supera el 105% del de la forma salvaje.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	humanos	X
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II

Se han aislado más de 50 serotipos de adenovirus humanos diferentes (Ad) que varían en su potencial patogénico.

Los adenovirus del subgrupo C, que incluye el tipo 5 pueden ser asintomáticas o causar enfermedades leves del sistema respiratorio, ocular y gastrointestinal, especialmente en niños. El periodo de incubación de la enfermedad es de 1 a 10 días. Puede producirse excreción intestinal del virus y se ha descrito infección latente en amígalas y vegetaciones. Sin embargo, el resultado habitual de la infección es la generación de inmunidad duradera contra el serotipo concreto. La exposición a los adenovirus del grupo C es muy amplia y la mayoría de la población es seropositiva para este tipo. En los adultos inmunocompetentes las infecciones con Ad5 son habitualmente asintomáticas y autolimitadas.

Los adenovirus humanos no afectan a otros animales, no se han demostrado enfermedades en animales por serotipos humanos de adenovirus.

Los adenovirus son virus no integrativos en el genoma, no integran material genético en el huésped.

A pesar de los esfuerzos de diversos grupos de investigación, no ha sido posible crear ratones transgénicos por medio de la inyección directa de adenovirus en los testículos.

inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II

El OMG será administrado en el cerebro. El principal proceso fisiológico que se espera que ocurra es la replicación viral que conducirá a la lisis y por tanto a la destrucción de las células tumorales. Las células normales del cerebro son postmitóticas. Debido a su atenuada replicación en células no tumorales, el OMG se espera que sea menos patógeno en esta localización que el adenovirus salvaje. Aun así, es posible que el virus pase al líquido cefalorraquídeo desde el parénquima cerebral en el que inyecta y/o a la sangre. La probabilidad de que esto ocurra es desconocida. Por ello, comentamos lo que podría pasar en el peor escenario posible asumiendo que esto ocurriera: el OMG en el torrente circulatorio sería capturado y destruido por las células de Kupffer en el hígado, como ocurre con el HAd5. El OMG podría tener capacidad para infectar células que habitualmente no son infectadas por el HAd5, aunque esto ocurriera, el OMG tendría una capacidad muy limitada para replicarse en células no tumorales. Un estudio de biodistribución tras la inyección intravenosa del OMG en ratas de algodón donde se comparaba la inyección del OMG con la inyección de un virus control sin la modificación RGD-4C reveló que la distribución fue prácticamente idéntica para ambos virus tanto en sangre como en los demás tejidos. Un ensayo clínico que empleó el virus intraperitonealmente tampoco encontró ninguna alteración de la biodistribución del OMG en humanos. Todo esto sugiere que el impacto de la modificación RGD-4C en la diseminación del virus a lo largo del cuerpo es mínima.

Por su reducida capacidad de replicación es muy improbable que se establezca una colonización por el OMG.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

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

La presencia del ADN del OMG se detecta mediante una qPCR específica empleando la amplificación de un *primer* específico para el gen de la fibra viral del adenovirus y una sonda fluorescente (TaqMan®) específica para el fragmento RGD-4C insertado en la fibra viral. Los ensayos funcionales para detección de virus viable, que no discriminan entre OMG y HAd5, incluyen tanto ensayos en placas como de infectividad. En estos experimentos una línea celular susceptible a infección y replicación del adenovirus se expone al virus en diluciones seriadas. En los experimentos de infección se emplea sobre las células una tinción frente a la expresión de la proteína del hexón y los resultados se expresan en unidades infecciosas por mL. En los experimentos en placas, los cultivos se mantienen hasta que las placas virales son visibles. Se cuentan el número de placas y los resultados se expresarán en unidades formadoras de placas por mL. Para confirmar la identidad del OMG in el análisis funcional se puede realizar PCR cuantitativa en los cultivos que contengan unidades formadoras de placas.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:
PCR cuantitativa específica (descrita en D4a).

F. Información sobre la liberación

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

Los tumores cerebrales difusos pediátricos, especialmente el glioma difuso de protuberancia (DIPG) está entre los tumores humanos más agresivos del sistema nervioso central que existen en la edad pediátrica. La supervivencia media tras el diagnóstico es de aproximadamente un año, a pesar del mejor tratamiento disponible en la actualidad. Se requieren nuevas terapias de manera inminente para combatir esta devastadora enfermedad, ya que de momento no se dispone de un tratamiento eficaz. Uno de los principales problemas con el tratamiento del DIPG es su carácter invasivo de forma que las células tumorales crecen entre las células del sistema nervioso y no es posible su extirpación. Debido a la existencia de la barrera hematoencefálica, los tratamientos basados en fármacos como las quimioterapias son insuficientes. El OMG es un adenovirus modificado genéticamente con una fuerte eficacia antitumoral debido a su capacidad de replicación selectiva en células tumorales, que produce una muerte de las células tumorales directa y muy efectiva (lisis de células tumorales). Como la expresión de receptores de alta afinidad para el adenovirus es baja en las células de gliomas, el OMG incorpora un ligando de integrinas (RGD-4C) en la cápside proteica de la fibra. Este péptido se une con gran afinidad a distintos tipos de integrinas, especialmente a las integrinas de tipo V, abundantes en la superficie de las células de glioma. Las células del tumor cerebral infiltrantes muestran una alta expresión de integrinas, mientras que la expresión de integrinas está ausente en el tejido cerebral normal. El OMG será administrado empleando una inyección intraparenquimatosa tras la biopsia del tumor. El objetivo del ensayo clínico es adquirir material del tumor para estudio y dar un nuevo tratamiento que aportará datos preliminares de la seguridad y eficacia con el OMG añadido al tratamiento estándar con radioterapia y quimioterapia. El objetivo final es desarrollar una terapia efectiva frente al DIPG. El mismo OMG se ha utilizado en otro ensayo en nuestra institución en 2013-2015, que mostró seguridad e indicios de eficacia en GBM recurrente.

--

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

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): Clínica Universidad de Navarra
b) Área del lugar (m ²): (i) lugar real de la liberación (m ²): Quirófano de 40 m ² El virus se mantendrá a -80°C en la farmacia del hospital y se administrará por el neurocirujano en el quirófano. (ii) área de liberación más amplia (m ²): Clínica Universidad de Navarra
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No aplica
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No aplica

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Los pacientes recibirán una única infusión de 5×10^{10} partículas virales en 1 mL.
b) Duración de la operación: La infusión durará unos 15 minutos aproximadamente.
(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: Los viales que contienen el virus DNX-2401 se entregarán en el departamento de farmacia de la Clínica Universitaria para uso clínico, debidamente sellados y etiquetados. Dichos viales se almacenarán y conservarán en un congelador a -80°C en un área de acceso restringido (a personal de farmacia exclusivamente). El acceso y manipulación del virus antes de su administración estará bajo la responsabilidad del farmacéutico. La dosis se cargará en una jeringa de 1 mL bajo condiciones

asépticas (cabina de seguridad: Clase II, tipo B) y de acuerdo con los requerimientos locales para el OMG. Toda la medicación restante y el material empleado para la preparación de la dosis de OMG será destruido localmente en función con los procedimientos de destrucción institucionales. El farmacéutico entregará la medicación al investigador principal/co-investigador en un contenedor hermético cerrado y etiquetado con la información relevante como el código del producto, "contiene un organismo genéticamente modificado OMG" y "producto de riesgo biológico". El departamento de farmacología y el quirófano están en la misma planta y conectados directamente, por lo que el riesgo durante el transporte es mínimo.

El OMG se liberará exclusivamente para uso dentro del protocolo de investigación, suministrado en viales cerrados y debidamente etiquetados (DNX-2401). La administración de DNX-2401 será responsabilidad de personal médico formado investigador del ensayo, y se hará de conformidad con el protocolo clínico y en cumplimiento de la Buena Práctica Clínica, en el quirófano del hospital. El personal presente en el quirófano deberá ponerse bata desechable, guantes, gafas de seguridad, mascarilla protectora tipo FFP3. Antes de empezar el tratamiento con DNX-2401, se colocarán en la puerta del quirófano un letrero visible advirtiendo del tratamiento, las restricciones y los posibles riesgos, y se colocarán dentro del quirófano los contenedores de residuos biopeligrosos de tipo III.

Todos los materiales que haya estado en contacto directo con el OMG, (restos de viales, agujas, guantes, etc) serán ser colocados dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III. Los residuos de tipo III se identifican oportunamente y son procesados y eliminados por una compañía especializada, según el protocolo vigente actualmente en el centro para este tipo de residuos.

Tras la administración del OMG, todo el equipo y las superficies de trabajo que potencialmente pudieran entrar en contacto con el agente serán desinfectados con Limoseptic®, desinfectante que contiene Glutaraldehído al 2,5%, al cual es muy sensible el adenovirus y Desinfect®, hipoclorito sodico 5%, al cual también es sensible. Para el resto del quirófano se seguirá el protocolo de "limpieza final" vigente en los quirófanos del centro, que incluye, Limoseptic® and Desinfect®).

Una vez se haya concluido con la administración de DNX-2401, el paciente permanecerá ingresado y monitorizado durante al menos 24 horas antes de darle el alta médica. La gestión de la habitación donde ingrese el paciente estará bajo la supervisión de personal de enfermería entrenado. Se mantendrá el letrero visible en la entrada advirtiendo del tratamiento, las restricciones y los posibles riesgos, y cuya puerta permanecerá siempre cerrada. Las visitas quedarán restringidas al acompañante del paciente que deberá llevar bata desechable, guantes y mascarilla. Una vez el paciente es dado de alta después del tratamiento, se limpiará la habitación según el protocolo de limpieza del hospital, que incluye Limoseptic® con glutaraldehído 2,5%).

Se informará también a los pacientes y familiares de los procedimientos de higiene básica para impedir una hipotética transmisión del OMG, además se recomendará al paciente que durante los primeros 3 días evite áreas públicas, transportes públicos, contacto con niños, ancianos, mujeres embarazadas, o inmunosuprimidos.

En caso de que el OMG sea vertido de forma accidental será limpiado con pañuelos secos. Seguidamente la superficie se desinfectará con paños mojados en una

solución de cloro activo (Desinfect®). Todo el material recogido y los guantes empleados durante este procedimiento de limpieza serán destruidos de acuerdo con los procedimientos para los OMG de los residuos biopeligrosos tipo III del hospital.

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

Ambiente hospitalario

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

Se han realizado cuatro ensayos clínicos con el mismo OMG, otros dos están en marcha, sin que se haya notificado impacto ni para el ambiente ni para la salud humana secundaria a su liberación. Los cuatro realizados son:

Fase I en pacientes con tumores ginecológicos malignos recurrentes llevado a cabo en Estados Unidos (Universidad de Alabama, Birmingham), en el que el DNX-2401(en este ensayo se denominaba Delta24-RGD-4C) se administró una vez al día durante 3 días consecutivos mediante infusión intraperitoneal. La dosis total fue de 3×10^{12} , que es 100 veces superior a la que utilizaremos en nuestro ensayo. No se observó toxicidad severa relacionada con la administración del virus a los pacientes, ni ningún impacto sobre el medioambiente. Se buscó ADN viral en los fluidos de los pacientes, no fue detectable en los pacientes que recibieron dosis como la de este ensayo o menor (3×10^{10}); se detectaron cantidades insignificantes en unos pocos pacientes de las cohortes de dosis mayores.

Fase I con DNX-2401 (en este momento se denominaba Delta24-RGD-4C) en pacientes con GBM recurrente en Estados Unidos (MD Anderson Cancer Center, Houston, Tx número de estudio ID01-310; Clinical Trial.gov NCT00805376). Este estudio realizó la inyección intracerebral del virus en quirófano, incluye una exhaustiva determinación de excreción de virus en los pacientes, se realiza desde 2009, se alcanzó la máxima dosis prevista 1×10^{11} y no se detectó liberación secundaria del OMG desde el paciente. En este estudio los pacientes son dados de alta a su domicilio unos días después de las administración del virus. No se han producido efectos adversos en el medio ambiente ni transmisión secundaria.

Fase I con DNX-2401 (en este momento se denominaba Delta24-RGD-4C) en pacientes con GBM recurrente realizado en Rotterdam, Países Bajos, en el Erasmus Medical Center, número de notificación de liberación B/NL/08/008 (Clinical Trial.gov NCT01582516). En este ensayo a los pacientes se les infundió el virus a nivel cerebral durante 50-68 hs, en función del número de catéteres implantados en el parénquima. Este estudio incluyó una exhaustiva determinación de presencia de virus en fluidos de los pacientes, se inició en 2010, y se alcanzó ya la máxima dosis prevista 1×10^{11} y no se ha detectado liberación secundaria del OMG desde el paciente. En este estudio los pacientes son dados de alta a su domicilio unos días después de las administración del virus.

No se han notificado datos relevantes en cuanto al impacto medioambiental ni sobre la salud humana.

Fase I en primera recurrencia de glioblastoma: realizado en nuestra institución, Clínica Universidad de Navarra, se completó entre Octubre 2013 y Noviembre 2015 otro ensayo Fase I, con un protocolo de administración del virus básicamente idéntico al que proponemos ahora. Se inyectó el virus en 31 pacientes. No se observó toxicidad relevante atribuida al virus. no se observó ningún caso de transmisión, ni de enfermedad inexplicada atribuible a enfermedad vírica.

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): Primate
ii) Familia (plantas): Hominidae
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecies: Homo sapiens sapiens
vi) Cepa: No aplica
vii) Cultivar/Línea de reproducción: No aplica
viii) Patovar: No aplica
ix) Nombre vulgar: No aplica

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

El OMG se prevé que infecte a células de glioma en el cerebro de los pacientes tratados, que replique selectivamente en estas células y cause su muerte celular por lisis. Las células que han sufrido lisis liberarán la progenie viral de modo que puedan infectar y destruir otras células de glioma. El principal objetivo del ensayo

es investigar la eficacia antitumoral tras administrar el OMG en el cerebro de pacientes con DIPG tratados en primera línea tras su diagnóstico

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

Existe, aunque altamente improbable, el riesgo de que el OMG y una forma salvaje de adenovirus infecten la misma célula humana y se recombinen formando un nuevo GMO con las propiedades de replicación de la forma salvaje del adenovirus y con tropismo expandido (mediado por la interacción con integrinas de RGD-4C). Este nuevo GMO podría ser menos agresivo que la forma salvaje de adenovirus.

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese: El OMG presenta una competencia disminuida en comparación con el adenovirus salvaje debido a la modificación Delta24 en el gen E1A que atenúa la replicación en las células no tumorales. Hay que destacar que el aumento de la infectividad por la modificación RGD-4C no afecta al descenso de la replicación por la modificación Delta24. La capacidad de la forma salvaje para infectar un nuevo organismo depende del elevado tropismo por las células del tracto respiratorio superior. La modificación en el OMG para infectar además a células que presenten integrinas no le proporciona una competitividad mayor que la del adenovirus salvaje, puesto que dichas células son muy infrecuentes en el individuo sano, y prácticamente inexistentes en el tracto respiratorio superior.		

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

Debido a las condiciones de liberación del OMG propuestas es muy improbable que DNX-2401 interactúe con una población no diana. Siendo el único huésped de HAd5 el ser humano, y que las modificaciones en DNX-2401 no modifica la selectividad de la especie, la posibilidad de producir transmisión a animales es inexistente. En el caso improbable de una administración errónea a una población no diana, la selectividad intrínseca del OMG evitaría la diseminación a células no tumorales.

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

No aplica

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Familia (plantas):

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: El intercambio genético entre el OMG y otros organismos es altamente improbable.
b) De otros organismos al OMG: El intercambio genético entre el OMG y otros organismos es altamente improbable.
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: La transferencia de la forma salvaje de E1A al OMG o la de la modificación de RGD-4C al adenovirus salvaje crearía un nuevo OMG con la propiedades de replicación del adenovirus salvaje y el tropismo infeccioso modificado. La infección con este teórico OMG sería probablemente autolimitada debido a la presencia de inmunidad frente a los adenovirus y su ausencia de ventajas competitivas.

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 aplica

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

No aplica

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El paciente al que se le administra el agente será seguido estrechamente dentro del protocolo del ensayo clínico, hasta 12 semanas después de la administración, mucho más del tiempo que puede persistir una infección por adenovirus salvaje. Cualquier efecto adverso inesperado será notificado dentro del protocolo de reacciones adversas del ensayo clínico. A partir de los 12 semanas se mantendrá un seguimiento menos frecuente, hasta el fallecimiento del paciente o 30 meses.. En los ensayos realizado en MDAnderson Cancer Center con el mismo OMG se ha visto que la liberación del virus es mínima y que no ha tenido ninguna repercusión sobre el medio ambiente. En el artículo publicado del ensayo clínico en pacientes con tumores ginecológicos malignos recurrentes (Kinball K et al, *Clin Cancer Res* 2010) uno de los objetivos principales del ensayo fue el estudio de la diseminación del virus en sangre, orina y saliva, concluyendo que era insignificante y solo aparecía a dosis 100 veces superiores a las usadas aquí. También se realizó esta misma monitorización en el ensayo clínico de Erasmus sobre glioblastoma, en el que se ha visto que la presencia del virus en la orina, saliva y suero de pacientes tratados es muy baja y ocurre a dosis mayores de las que están previstas para este ensayo. Basados en estos datos, la monitorización de nuestro ensayo se basará en la estrecha evaluaciones clínica del paciente. Como medida de seguridad adicional se indicará a los pacientes que tras el alta médica deben mantener unas medidas de higiene personal rigurosas, incluyendo lavado de manos frecuente, y especialmente evitar contacto con población vulnerable, especialmente personas inmunodeprimidas. Se indicará también que comuniquen inmediatamente cualquier síntoma de enfermedad de vías respiratorias altas.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Basados en la baja probabilidad de transmisión a terceros y la imposibilidad de DNX-2401 de amplificarse o replicarse en otras especies y teniendo en cuenta las condiciones controladas de distribución del OMG, las probabilidades de impacto medioambiental debido a la diseminación del OMG a una población no diana es prácticamente imposible. No hay riesgo de diseminación del virus al ecosistema por lo que los efectos sobre el ecosistema no serán monitorizados.

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

No es aplicable. La transferencia de material genético a otras especies distintas del ser humano no es posible. De forma adicional, la posibilidad de interacción entre el OMG y una población no diana es imposible debido a la limitación de la diseminación bajo las condiciones propuestas de administración en este ensayo y la presencia transitoria del genoma de DNX-2401 en poblaciones no humanas (basado en la especificidad por la especie humana de los adenovirus) y la selectividad del

DNX-2401 para replicar en células tumorales.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

Quirófano durante la administración del OMG 40 m²
Habitación del hospital o de la UCI durante las primeras 24hs, al día siguiente una habitación del hospital: son de unos 30 m²
Una habitación de exploración, para las visitas de seguimiento posterior: 20 m²

5. Duración del seguimiento

El paciente al que se le administra el agente será seguido estrechamente dentro del protocolo del ensayo clínico, hasta 18 semanas después de la administración, mucho más del tiempo que puede persistir una infección por adenovirus salvaje. Cualquier efecto adverso inesperado será notificado dentro del protocolo de seguimiento del ensayo clínico en los siguientes 30 meses tras la administración del OMG (o hasta el fallecimiento del paciente).

6. Frecuencia del seguimiento

El seguimiento estrecho incluye evaluaciones clínicas, exploración física y neurológica cada 2 semanas o cuando aparezcan nuevos síntomas y analítica cada 2 semanas. A partir de las 12 semanas se mantendrá un seguimiento menos frecuente, incluyendo notificación de efectos adversos, hasta el fallecimiento del paciente o 2 años.

I. Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Tras la administración del OMG, todo el equipo y las superficies de trabajo del quirófano que potencialmente pudieran entrar en contacto con el agente serán desinfectados con Limoseptic®, desinfectante que contiene Glutaraldehído al 2,5%, al cual es muy sensible el adenovirus y Desinfect®, hipoclorito sodico 5%, al cual también es sensible. Para el resto del quirófano se seguirá el protocolo de "limpieza final" vigente en los quirófanos del centro, que incluye, Limoseptic® and Desinfect®).

Una vez el paciente es dado de alta después del tratamiento, se limpiará la habitación según el protocolo de limpieza del hospital, que incluye Limoseptic® con glutaraldehido 2,5%).

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

No se requiere tratamiento tras la liberación del OMG.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los residuos incluyen las jeringas empleadas para la administración del virus, el vial que contiene el virus, los guantes, las batas, calzas y mascarillas del personal y los visitantes.

3(b) Tratamiento de residuos

Todos los materiales que haya estado en contacto directo con el OMG, serán ser colocados dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III. Los residuos de tipo III se identifican oportunamente y son procesados y eliminados por una compañía especializada, según el protocolo vigente actualmente en el centro para este tipo de residuos.

El material y superficies no desechables se tratarán en el autoclave o serán desinfectados con una solución con cloro activo (Desinfect®).

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

En caso de que el OMG sea vertido de forma accidental, todo el personal en la zona deberá protegerse con mascarillas tipo FFP3, guantes y bata desechable, antes de proceder a la limpieza. Las puertas se cerrarán y se advertirá para evitar la entrada accidental en el área hasta que acabe la limpieza.

Se limpiará la superficie primero con pañuelos secos. Seguidamente la superficie se desinfectará con paños mojados en una solución de cloro activo (Desinfect®). Todo el material recogido y los guantes empleados durante este procedimiento de limpieza serán destruido de acuerdo con los procedimientos para residuos biopeligrosos tipo III del hospital.

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

En caso de que el OMG sea vertido de forma accidental será limpiado con pañuelos secos. Seguidamente la superficie se desinfectará con paños mojados en una solución de cloro activo (Desinfect®). Todo el material recogido y los guantes empleados durante este procedimiento de limpieza serán destruido de acuerdo con los procedimientos para residuos biopeligrosos tipo III del hospital.

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 aplicable

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

Los pacientes serán monitorizados para la detección de efectos adversos graves en función del protocolo clínico: cada efecto adverso grave será registrado y evaluado y se notificarán a las autoridades sanitarias cuando sean relevantes. Planes específicos para la protección del medio ambiente no se consideran necesarios por los motivos enumerados en los apartados anteriores.