

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/18/25
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	11/09/2018
d) Título del proyecto:	Primer estudio en seres humanos, de fase 1/2a, de BMS-986277 administrado en monoterapia y en combinación con nivolumab en tumores epiteliales avanzados
e) Período propuesto para la liberación:	Primer paciente tratado: 12/2018; Último paciente tratado: 09/2022

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Bristol-Myers Squibb
-------------------------------------	----------------------

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input checked="" 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	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Mastadenovirus; Especie: adenovirus quimérico humano

BMS-986277 es un adenovirus oncolítico competente en cuanto a replicación, selectivo para células tumorales epiteliales humanas. Se ha modificado el genoma para que exprese 2 transgenes: un antígeno coactivador de linfocitos T humanos de longitud completa, CD80, y un fragmento variable de cadena única del anticuerpo monoclonal de ratón anti- CD3ε humano, OKT3 (anti-CD3-ScFv-TM), controlados por el promotor tardío mayor del virus.

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

En general, como virus de ADN de doble cadena con tamaños de genoma de aproximadamente 36 kb, se considera que los adenovirus son genéticamente estables. La ADN polimerasa del adenovirus tiene actividad de corrección de errores (proofreading) y elimina los nucleótidos mal apareados. Sin embargo, la posibilidad de coinfección permite la recombinación natural entre adenovirus. La recombinación 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 fundamentalmente entre cepas de la misma especie de adenovirus, en regiones de homología, pero presumiblemente no entre diferentes especies de adenovirus. La seroprevalencia del adenovirus tipo 5 silvestre (Ad5) es mucho mayor en comparación con el adenovirus 11 (Ad11).

Se espera la estabilidad genética del OMG de acuerdo con su diseño, fabricación y uso terapéutico. El OMG es un virus ADN de doble cadena, de 34.522 pares de bases. Este tamaño del genoma es similar al del adenovirus silvestre de 34.794 pares de bases. Los adenovirus recombinantes se consideran, en general, genéticamente estables, siempre que el total de pares de bases no supere el 105% del tamaño del genoma original. La ADN polimerasa del adenovirus tiene actividad de reparación de errores y elimina los nucleótidos mal apareados. Sin embargo, una posibilidad de coinfección permite la recombinación natural entre adenovirus. Esta recombinación se produce fundamentalmente entre cepas de la misma especie de adenovirus, en regiones de homología. El OMG es un adenovirus quimérico Ad11/Ad3 del Grupo B y la mayor parte de su genoma se deriva del virus Ad11. Los informes de infección clínica por virus Ad11 silvestre son raros y, por tanto, la probabilidad de recombinación con este vector quimérico es reducida en comparación con un vector derivado del serotipo más común Ad5. La recombinación con Ad3 silvestre es improbable, ya que la porción quimérica de Ad3 está limitada a las 197 secuencias no-homólogas en la región E2b. Se han instaurado también controles de fabricación mediante el uso de una reserva maestra de siembra viral, cuya cualificación incluye secuenciación genómica, pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y digestión con enzimas de restricción para confirmar la integridad del OMG. El biorreactor de producción se infecta a partir de esta reserva de siembra maestra, lo que limita la propagación del virus durante la producción. Se estudia además cada lote de producto para asegurar la integridad genética usando PCR y mapeado por digestión con enzimas de restricción. Por último, el adenovirus quimérico Ad11/Ad3 se desarrolló para asegurar un alto nivel de selectividad por las células malignas, de manera que la replicación en células humanas sanas es escasa o inexistente.

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

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: Canadá - Número de la notificación: N/A ID del expediente: HC6-024-C209470, N.º de control: 209470	

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

Se ha administrado el OMG a seres humanos en un ensayo clínico de fase 1. Se están recogiendo datos relativos a la liberación del OMG al medio ambiente. No se ha detectado OMG en las muestras de orina, saliva o heces analizadas cuantitativamente por PCR hasta la fecha.

También se dispone de datos de liberación del adenovirus parental, enadenotucirev, la fuente del OMG, que fue administrado mediante 3 perfusiones intravenosas (IV) a lo largo de 5 días. Desde el día 17 tras la administración del virus, el ADN viral se detectó en muestras rectales o bucales en menos del 10% de los pacientes (N = 31) y solo en 1 paciente 56 días tras la administración de la dosis final. Se desconoce la infectividad de las muestras para el adenovirus oncolítico parental, enadenotucirev, ya que la PCR cuantitativa no discrimina entre virus infecciosos, virus no infecciosos, o productos generados a partir de virus. En el ensayo clínico con este OMG, las muestras de orina, saliva y heces con OMG detectable serán analizadas mediante ensayo de placas para evaluar la infectividad del virus.

Además, los seres humanos son los huéspedes del adenovirus silvestre. Las infecciones por adenovirus son fundamentalmente asintomáticas, autolimitadas y restringidas a unos pocos tejidos permisivos. Además, la replicación viral del OMG es muy selectiva para la replicación en células cancerosas humanas, lo que reduce su posible impacto ambiental.

Los adenovirus no integran su ADN en el huésped, por lo que la transmisión a lo largo del genoma del receptor no es posible.

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

La información facilitada se basa en las siguientes definiciones:

- OMG: BMS-986277
- Receptor: enadenotucirev

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" 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	<input type="checkbox"/>
	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase)
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Adenovirus
ii) Género: Mastadenovirus
iii) Especie: Adenovirus humano
iv) Subespecie: Adenovirus del Grupo B
v) Cepa: Quimérica Ad11p/Ad3 específica del ser humano
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):

vii) Nombre vulgar:
enadenotucirev

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:

Sí

No

No se sabe

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 , (especificuense): Específico para el ser humano

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:
No aplicable

5.a) Técnicas de detección

El adenovirus parental, enadenotucirev, puede ser detectado mediante infección de una línea celular permisiva como HEK293, o teóricamente utilizando PCR con un conjunto de cebadores específicos de adenovirus humanos ¹ (J. Virol Methods. 2001 Apr;92(2):113-20)

5.b) Técnicas de identificación

El adenovirus parental, enadenotucirev, puede ser identificado mediante técnicas como secuenciación de ADN, mapeo con enzimas de restricción de ADN genómico aislado o PCR utilizando cebadores diagnósticos para la identificación. Los ensayos de mapeo con enzimas de restricción o con PCR que pueden distinguir el adenovirus parental del OMG se incluyen en los ensayos de control de calidad a liberación.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: A todos los adenovirus humanos se les ha asignado el Grupo de Riesgo 2 por parte de las Comunidades Europeas (Directiva 2000/54/EC). El adenovirus 11 es un patógeno que puede causar enfermedad en seres humanos pero es poco probable que sea un peligro grave para los trabajadores de laboratorio, la comunidad, la ganadería o el medio ambiente.	

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"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input checked="" type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	

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

Enadenotucirev, el organismo receptor, es un adenovirus quimérico Ad11p/Ad3 y la mayor parte de su genoma se deriva del virus Ad11. Ad11 y Ad3 son ambos adenovirus del Grupo B. Varios grupos han examinado la seroprevalencia de Ad11 silvestre y ha resultado ser relativamente baja en comparación con el adenovirus silvestre de tipo 5 (Ad5). En un estudio, se demostró que solo el 8,3% de los sujetos, incluidos aquellos con cáncer, tienen anticuerpos neutralizadores frente a Ad11, en comparación con 64,6% en el caso del Ad5. Con respecto a la patogenicidad, infectividad y virulencia de Ad11, los informes de infección clínica con Ad11 silvestre son relativamente raros. Se han notificado infecciones por Ad11 en pacientes inmunodeprimidos debido a tratamientos para trasplantes de médula ósea, células progenitoras y órganos sólidos y la vía urogenital es el lugar frecuente de infección. Enadenotucirev, el organismo receptor, no es un transportador conocido de patógenos. El rango de huéspedes se limita a los seres humanos, porque enadenotucirev no se replica en células de especies no humanas. Además, enadenotucirev se desarrolló para garantizar un nivel elevado de selectividad por las células malignas de manera que la replicación en células humanas sanas es escasa o inexistente. Se ha administrado enadenotucirev a más de 100 pacientes sin pruebas de activación de virus latentes, alergenidad o toxigenidad.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:		
El organismo receptor es muy selectivo en cuanto a su replicación en células epiteliales tumorales humanas; por tanto, no hay tiempo de replicación apreciable en un ecosistema natural.		
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:		
El organismo receptor es muy selectivo en cuanto a la replicación en células epiteliales tumorales humanas; por tanto, no hay tiempo de replicación apreciable en un ecosistema natural.		
c) Modo de reproducción		
No aplicable	Sexual <input type="checkbox"/>	Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción:		
No aplicable		

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
(i) endosporas	<input type="checkbox"/>
(ii) quistes	<input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
(vi) huevos	<input type="checkbox"/>
(vii) pupas	<input type="checkbox"/>
(viii) larvas	<input type="checkbox"/>
(ix) otras (especificuense)	<input type="checkbox"/>

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia
Los adenovirus pierden rápidamente su actividad a temperatura ambiente. La pérdida de actividad es logarítmica y, en consecuencia, el virus conserva un cierto grado de estabilidad durante un cierto tiempo, pero los niveles restantes están típicamente por debajo del umbral de infectividad. Los adenovirus son sensibles a desinfectantes viricidas disponibles comercialmente. Los adenovirus son también sensibles a la temperatura y puede conseguirse la inactivación sometiendo a autoclave a 121°C durante 30 minutos. También pueden usarse temperaturas más altas o periodos de tiempo en el autoclave más largos.

10.a) Vías de diseminación

Ingestión, inhalación, contacto con membranas mucosas e inyección accidental (pinchazo con aguja).

10.b) Factores que afectan a la diseminación

La diseminación se ve afectada por la concentración de virus excretado, la producción de aerosoles, el grado de contacto y factores individuales como la exposición previa a adenovirus relacionados y el estado inmunitario global.

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 aplicable

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Los 2 transgenes insertados, antígeno coactivador de linfocitos T humanos de

longitud completa CD80 y un fragmento variable de cadena única del anticuerpo monoclonal de ratón anti-CD3ε humano, OKT3 (anti-CD3-ScFv-TM), están bajo el control del promotor tardío mayor endógeno del virus. La inclusión de estos transgenes está pensada para que conduzca a la activación de la inmunidad antitumoral en pacientes con tumores derivados de epitelios, sensibles a la infección por el OMG.

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):	<input type="checkbox"/>
b) Identidad del vector:	
Se usa el plásmido “ <i>shuttle</i> ” de <i>E. coli</i> que contiene el origen de replicación, el gen de resistencia a la kanamicina y la secuencia del OMG (adenovirus quimérico y transgenes) como paso intermediario en la construcción inicial del OMG. El genoma viral del OMG se escindió del plásmido “ <i>shuttle</i> ” y se transfectó a las células HEK293 para generar el aislado inicial del producto OMG.	

c) Gama de organismos huéspedes del vector:
 El plásmido “*shuttle*” solo se replica en *E. coli*. El genoma viral del OMG que está presente en el plásmido “*shuttle*” puede replicarse en líneas celulares tumorales humanas permisibles, como HEK293.

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: kanamicina

e) Fragmentos constituyentes del vector
 El plásmido “*shuttle*” de *E. coli* contiene un origen bacteriano de replicación, el gen de resistencia a la kanamicina y la secuencia genómica completa del OMG. El OMG contiene la secuencia del virus parental enadenotucirev con la cassette de transgenes insertada compuesta por las secuencias transmembranosas CD80 y fragmento variable de cadena única anti-CD3 (ScFv), secuencia de aceptor de división corta, péptido autoescindible de alta eficiencia (P2A) y secuencia Poli(A). El OMG no contiene un gen de resistencia a antibióticos.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación plásmido “*shuttle*”

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense) El fragmento del ADN lineal obtenido del plásmido “*shuttle*” que contiene los transgenes y secuencias del virus quimérico se introduce en las células HEK293 mediante transfección.

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>Cassette de transgenes compuesta de secuencias transmembranas de CD80 y de fragmento variable de cadena única anti-CD3 (ScFv), secuencia de aceptor de división corta, péptido autoescindible de alta eficiencia (P2A) y secuencia Poli(A)</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <ul style="list-style-type: none">• Secuencia transmembranosa CD80: ser humano• Secuencia transmembranosa anti-CD3-ScFv: ratón• Secuencia de aceptor de división corta: ADN sintético• péptido autoescindible de alta eficiencia: ADN sintético• Secuencia poli(A): ADN sintético
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>(a) Secuencia transmembranosa CD80: codifica CD80 humano, una molécula co-estimuladora que se une al CD28 (señal 2) durante la activación de células T</p> <p>(b) Secuencia transmembranosa anti-CD3-ScFv: codifica anticuerpo de ratón anti CD3ε humano, OKT3, que se une al receptor de células T (señal co-estimuladora 1) y activa las células T</p> <p>(c) Secuencia de aceptor de división corta: para permitir la división eficiente del ARNm de la cassette de transgenes y la expresión de transgenes en las células de mamíferos</p> <p>(d) Péptido autoescindible de alta eficiencia: para inhibir la formación de enlaces covalentes entre la proteína naciente y el aminoácido en el ARNt en el ribosoma</p> <p>(e) Secuencia poli(A): para promover el procesamiento postranscripcional eficiente en células de mamífero</p>

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):	<input checked="" type="checkbox"/> codificado en el genoma viral bajo el Promotor Tardío Mayor (MLP)
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?	
Sí	<input type="checkbox"/>
No	<input checked="" type="checkbox"/>
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 checked="" type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	ADN sintético

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): ...Transgen 1: Primates; Transgen 2: Roedores
ii) Familia (plantas): ...N/A

iii) Género: ... Transgen 1:Homo; Transgen 2:Mus
iv) Especie: ... Transgen 1:sapiens; Transgen 2: musculus
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: ... Transgen 1: Seres humanos; Transgen 2: Ratón

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

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

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

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

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

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

Las respuestas a lo siguiente se basan en el organismo receptor o parental como enadenotucirev

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

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Se espera la estabilidad genética del OMG de acuerdo con su diseño, fabricación y uso terapéutico. El OMG es un virus de ADN de cadena doble, de aproximadamente 34.522 pares de bases, que se considera generalmente estable genéticamente, puesto que el número total de pares de bases no supera el 105% del tamaño del genoma original. Además, la ADN polimerasa de los adenovirus tiene actividad de reparación de errores (*proofreading*) y elimina los nucleótidos con errores de concordancia. Sin embargo, una posibilidad de coinfección permite la recombinación natural entre adenovirus. Esta recombinación se produce fundamentalmente entre cepas de la misma especie de adenovirus en las regiones de homología. El OMG es un adenovirus quimérico Ad11p/Ad3 de Grupo B, en el que la mayor parte del genoma proviene del virus Ad11. Los informes de infección clínica con virus Ad10 de tipo silvestre son raros y, por tanto, la probabilidad de recombinación con este vector quimérico es reducida en comparación con un vector derivado del serotipo más frecuente Ad5. La recombinación con Ad3 silvestre es

improbable, ya que la porción quimérica de Ad3 está limitada a las 197 secuencias no-homólogas en la región E2b. También se han instaurado controles de fabricación mediante el uso de una reserva maestra de siembras viral, cuya cualificación incluye secuenciación genómica, pruebas de reacción en cadena de polimerasa (PCR) y digestión con enzimas de restricción para confirmar la integridad genética. El biorreactor de producción se infecta a partir de esta reserva de siembra maestra, lo que limita la propagación del virus durante la producción. Cada lote del producto se estudia adicionalmente para asegurar la integridad genética usando pruebas de PCR y mapeo mediante enzimas de restricción. Por último, el adenovirus quimérico Ad11p/Ad3 se desarrolló para asegurar un nivel alto de selectividad para células malignas, de manera que la replicación en células humanas sanas es escasa o inexistente.

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	<input checked="" type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

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

Enadenotucirev, el organismo receptor, es un adenovirus quimérico Ad11p/Ad3 la mayoría de cuyo genoma procede del virus Ad11. Ad11 y Ad3 son ambos adenovirus del Grupo B. Varios grupos han examinado la seroprevalencia del Ad11 silvestre y se ha observado que es relativamente baja en comparación con el adenovirus silvestre de tipo 5 (Ad5). En un estudio, se demostró que sólo el 8,3% de los sujetos, incluidos aquellos con cáncer, tienen anticuerpos Ad11 neutralizadores, en comparación con el 64,6% en el caso del Ad5. Con respecto a la patogenicidad, la infectividad y la virulencia del Ad11, los informes de infección clínica con Ad11 silvestre son relativamente raros. Se han notificado infecciones por Ad11 en pacientes inmunodeprimidos debido a tratamientos para trasplantes de médula ósea, células progenitoras y órganos sólidos, siendo el tracto urogenital el lugar frecuente de infección. Enadenotucirev, el organismo receptor, no es un transportador de patógenos conocido. El rango de huéspedes está limitado a los seres humanos, porque enadenotucirev no se replica en células de especies no humanas. Además, enadenotucirev se ha desarrollado para garantizar un alto nivel de selectividad por las células epiteliales malignas humanas, de manera que la replicación en células humanas es escasa o inexistente. Enadenotucirev se ha administrado a más de 100 pacientes sin pruebas activación del virus latente, alergenicidad o toxigenicidad.

De acuerdo con el hecho de que enadenotucirev y el OMG tienen una cápside externa idéntica, se espera que el OMG tenga propiedades idénticas a las del virus original (enadenotucirev).

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

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

En el estudio clínico de fase 1 que está en marcha, se recogerán muestras de orina, saliva y heces. Se analizarán las muestras de orina, saliva y heces para detectar excreción del virus. Las muestras de sangre completa se utilizarán para caracterizar la farmacocinética del OMG administrado. Se analizarán las muestras mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) para cuantificar el ADN viral en cada tipo de muestra.

Las muestras de excreción viral con virus cuantificable mediante qPCR serán analizadas en un ensayo de placas para evaluar la infectividad del virus detectado. Como las partículas virales circulantes medidas por qPCR podrían ser fragmentos inactivos o unidos a anticuerpos que las convierten en inactivas, podría ser necesario evaluar el porcentaje de virus infeccioso circulante frente al virus cuantificado circulante. Para evaluar esto, algunas muestras de sangre entera serán analizadas en el ensayo de placas para comparar la cantidad de virus circulante frente a la cantidad de virus infeccioso circulante.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El ADN es extraído de cada tipo de muestra y se analiza mediante un ensayo qPCR. El ensayo qPCR utiliza una sonda fluorogénica TaqMan que es complementaria a la

secuencia diana del transgen hCD80 insertado del GMO. En presencia de los cebadores, la sonda, y la Taq polimerasa, la replicación de la secuencia diana producirá un aumento en la señal fluorescente. Esta señal se utiliza para extrapolar la concentración de ADN basándose en los estándares conocidos

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de la liberación es administrar el OMG en un ensayo clínico de fase 1/2a. El objetivo principal del ensayo clínico es caracterizar la seguridad y la tolerabilidad del OMG cuando se administra como monoterapia o en combinación con el agente anti-punto de control PD-L1 nivolumab en sujetos humanos con tumores epiteliales avanzados. El ensayo clínico está también diseñado para determinar las dosis recomendadas y las pautas posológicas del OMG como monoterapia y en combinación con nivolumab. Los objetivos secundarios incluyen la farmacocinética y la excreción del OMG, la generación de anticuerpos antivirales y la actividad antitumoral preliminar de la monoterapia y el tratamiento de combinación en sujetos humanos con tumores epiteliales avanzados.

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 Universitaria de Navarra. Avenida Pio XXI, 36. Pamplona 31008. Navarra. Hospital Universitario Madrid Norte Sanchinarro. Calle Oña, 10. 28050 Madrid. Madrid. Función Jiménez Díaz. Avda, Reyes Católicos, 2. Madrid 28040. Madrid.
b) Área del lugar (m ²): (i) lugar real de la liberación (m ²): Zona de administración clínica, que variará según la institución (ii) área de liberación más amplia (m ²): Hospital académico donde tendrá lugar la preparación de la administración del virus, que varía según la institución
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

No aplicable
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: Ninguno

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Los pacientes del estudio recibirán un máximo de 7 dosis. Consultar el Anexo 5 en relación a la cantidad de virus contenida en cada dosis. Se tratará aproximadamente un total de 200 pacientes en el ensayo clínico, aproximadamente 50 de ellos en España.
b) Duración de la operación: El tratamiento con el OMG se administrará a lo largo de 5-15 minutos dependiendo de la dosis de partículas virales asignada. Los pacientes podrían recibir hasta 7 dosis del OMG a lo largo de aproximadamente 2 meses. Está previsto que el ensayo tenga lugar aproximadamente entre diciembre de 2018 y septiembre de 2022.
(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: Deben seguirse las precauciones que incluyen llevar equipo de protección personal, como bata desechable, guantes, gafas de seguridad y una máscara. Deben colocarse señales adecuadas en las zonas de preparación y tratamiento antes de la manipulación del OMG. Las señales deben ser una nota visible e incluir advertencias sobre el tratamiento, las restricciones y los posibles riesgos. La eliminación de todos los materiales en contacto con el OMG deben seguir procedimientos de eliminación adecuados en un contenedor para residuos sanitarios de Tipo III. Los residuos de tipo III se deben procesar y eliminar por una compañía especializada para este tipo de residuos. Todas las superficies de preparación deben ser descontaminadas usando un desinfectante al que sea sensible el adenovirus. Todas las muestras recogidas después de la administración del OMG deben ser manipuladas utilizando equipo de protección personal. El transporte de las muestras que contienen OMG o muestras recogidas de pacientes a los que se ha administrado el OMG deben incluir un recipiente primario a prueba de fugas, estar envueltas con suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de fuga y un recipiente secundario a prueba de fugas para incluir y proteger el recipiente primario.

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

Clima mediterráneo y condiciones controladas en la zona del hospital.

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

No aplicable, véase la sección B.7b.

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

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

El OMG se ha desarrollado para actividad oncolítica selectiva en células tumorales humanas derivadas de epitelios y está modificado para expresar 2 transgenes: un antígeno coactivador de linfocitos T humanos, de longitud completa, CD80 y un fragmento variable de cadena única del anticuerpo monoclonal de ratón anti- CD3ε humano, OKT3. Por tanto, se espera que el OMG tenga una acción doble de muerte celular directa mediante la actividad del virus oncolítico y promoción de respuestas

inmunitarias antitumorales mediante activación de los linfocitos T a través de la expresión de los transgenes en la superficie celular de las células tumorales infectadas. La expresión de los transgenes está bajo el control del promotor tardío mayor (MLP) endógeno del virus, que limita la expresión de transgenes a las células que están replicando activamente el virus. La expresión fuera de la diana (off-target) es limitada, porque las células no tumorales no son permisivas de la infección por virus.

El objetivo principal del ensayo es investigar la seguridad y la eficacia de la administración del OMG a pacientes con tumores epiteliales avanzados.

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

La gama de huéspedes del OMG está limitada a los seres humanos, porque la cápside externa viral es del Ad11 silvestre. Los informes de infección clínica con Ad11 silvestre son relativamente raros. Se han comunicado infecciones por Ad11 en pacientes inmunodeprimidos debido a tratamientos para trasplante de médula ósea, células progenitoras u órganos sólidos, siendo las vías urogenitales un lugar frecuente de infección. Además, el virus parental del OMG elegido ha limitado la capacidad del OMG para replicarse en células humanas distintas de los carcinomas.

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

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: La replicación es muy selectiva para las células tumorales epiteliales humanas		

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

No aplicable, muy específico de especie (ser humano) y no se replica en células de origen no humano. Además, el OMG es muy selectivo para las células tumorales epiteliales humanas.

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 aplicable

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: No aplicable
b) De otros organismos al OMG: No aplicable
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: No aplicable

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 aplicable

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

Ninguna

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se vigilará a los pacientes del estudio en cuanto a carga viral, excreción del virus, anticuerpos frente al virus, actividad antitumoral y acontecimientos adversos después de la administración del OMG. Se evaluará la excreción del virus en muestras de sangre, orina, saliva y heces. Las evaluaciones clínicas de los pacientes del estudio incluirán exploraciones físicas, ECG, constantes vitales, evaluaciones de laboratorio clínico y acontecimientos adversos, incluidas reacciones en el lugar de la perfusión y síndrome de liberación de citocinas. Se realizarán evaluaciones adicionales de los infiltrados tumorales y de poblaciones inmunitarias.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No aplicable, debido a la baja probabilidad de transmisión a sujetos no tratados y la capacidad limitada del OMG para replicarse en células humanas que no sean de carcinoma. Por tanto, es muy improbable que se produzcan efectos en el ecosistema.

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

No aplicable, de acuerdo con la especificidad por las células tumorales epiteliales humanas del OMG.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

Áreas de administración clínica, que varían en cada institución

5. Duración del seguimiento

Se vigilará clínicamente a los pacientes del estudio durante al menos 60 días después del último tratamiento del estudio y se evaluará la carga/excreción viral al menos 60 días después del último tratamiento del estudio.

6. Frecuencia del seguimiento

Al menos semanalmente, durante el tratamiento del estudio con OMG y cada 30 días durante los primeros 2 meses y luego, cada 3 meses durante el seguimiento.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Los desechos generados durante la preparación y manipulación del OMG deben seguir los procedimientos de eliminación adecuados en un contenedor para residuos sanitarios de Tipo III. Los residuos de tipo III se deben procesar y eliminar por una compañía especializada para este tipo de residuos. Todas las superficies de preparación deben ser descontaminadas utilizando un desinfectante al que el adenovirus sea sensible.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los residuos generados durante la preparación y manipulación del OMG deben seguir los procedimientos de eliminación adecuados en un contenedor para residuos sanitarios de Tipo III. Los residuos de tipo III se deben procesar y eliminar por una compañía especializada para este tipo de residuos. Se instruirá a los pacientes a través del consentimiento informado sobre las precauciones de contacto después de la administración de OMG, como evitar el contacto personal estrecho con poblaciones vulnerables, no compartir utensilios de alimentación y notificar cualquier síntoma de infección.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los residuos incluirán todos los materiales de preparación de la farmacia, equipo de protección personal (EPP) que lleve el personal en contacto con el OMG y los materiales de administración del fármaco del estudio.

3(b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos generados durante la preparación y manipulación del OMG deben seguir los procedimientos de eliminación adecuados en un contenedor para residuos sanitarios de Tipo III. Los residuos de tipo III se deben procesar y eliminar por una compañía especializada para este tipo de residuos.

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

Toda la preparación de OMG debe realizarse en una cabina de bioseguridad de clase II, por parte de personal formado. Se facilitará un manual de farmacia detallado a los centros e incluirá todos los procedimientos de preparación de OMG y las instrucciones de administración del OMG. En caso de vertidos accidentales, el vertido debe ser recogido con material adecuado, inerte y absorbente, como toallitas de papel o tela, se debe echar un desinfectante comercial en la zona del vertido evitando salpicar o levantar polvo, y dejando actuar durante 30 minutos con la ventilación apropiada. Después de 30 minutos de descontaminación, todos los materiales utilizados durante el lavado deben colocarse en bolsas de plástico para

materiales con riesgo biológico para su eliminación en contenedores sanitarios de Tipo III. El sitio del vertido debe ser lavado posteriormente con agua fría y todo el equipo protector personal ser eliminado en contenedores de Tipo III o descontaminado con desinfectante comercial. La transferencia de material que contenga OMG debe seguir precauciones universales. Todas las muestras recogidas después de la administración del OMG deben ser manipuladas utilizando un equipo de protección personal. El transporte de las muestras recogidas de pacientes a los que se ha administrado el OMG deben incluir un recipiente primario a prueba de fugas, estar envueltas con suficiente material absorbente para absorber todo el fluido en caso de fuga y un recipiente secundario a prueba de fugas para incluir y proteger el recipiente primario. Todo el personal que manipule materiales potencialmente infecciosos debe estar formado en los procedimientos de manipulación segura y procedimientos de descontaminación. El virus parental del OMG es sensible al tratamiento con terapia virostática, como cidofovir y ribavarina. Como las características virales del virus parental se mantienen en el OMG, se espera que el OMG sea sensible al tratamiento virostático.

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

Todas las áreas donde se manipule, conserve o transporte el OMG deben estar equipadas con el apropiado desinfectante viricida, y kits de desinfección contra cualquier salpicadura o vertido potencial, incluyendo los materiales descritos en J.1. Todas las áreas de preparación de OMG deben ser descontaminadas utilizando un desinfectante para el que el adenovirus sea sensible y todos los equipos de protección personal desechados en contenedores de tipo III o desinfectados.

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. El OMG sólo se administrará en los centros clínicos.

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

Se vigilará a los pacientes del estudio en cuanto a la aparición de acontecimientos adversos graves (AAG) según el protocolo clínico. Se evaluarán los AAG según el protocolo. Se informará a las autoridades sanitarias según sea necesario de acuerdo con la legislación local.

Debido a la falta de infectividad en células no humanas y la especificidad para las células epiteliales tumorales humanas, la probabilidad de que el OMG altere la dinámica de poblaciones fuera de las personas tratadas en el protocolo clínico es despreciable. Sin embargo, no puede descartarse completamente la infección no intencionada de personas vulnerables (p. ej., personas inmunodeprimidas, mujeres embarazadas o en la lactancia, niños < 1 año). Por tanto, los documentos de

consentimiento informado del OMG aconsejan a los pacientes que eviten el contacto estrecho con personas con alto riesgo de infecciones virales hasta 30 días después de la última dosis del OMG. Como los transgenes están bajo el control del MLP endógeno del virus que restringe la expresión de transgenes a las células que están replicando virus activamente, la expresión y replicación fuera de la diana son limitadas. Además, el adenovirus incluyendo el virus parental del OMG es sensible al tratamiento virostático, como cidofovir y ribavarina. Todas las características virales del virus parental se mantienen en el OMG, con lo que se espera que el OMG sea sensible al tratamiento virostático.

REFERENCIAS

ⁱ A. Avellon, P. Perez, J. Aguilar, R. Lejarazu, J. Echevarria, Journal of Virological Methods, 92 (2001), 113-120