

**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/19/06
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: 19/06/2019
d) Título del proyecto: Un ensayo de fase I/II que evalúa la seguridad y la tolerabilidad de la administración intratumoral de ORCA-010 en pacientes con cáncer de próstata localizado que no han recibido tratamiento.
e) Período propuesto para la liberación: Del 01/09/2019 hasta el 31/12/2025

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	ORCA Therapeutics BV, Onderwijsboulevard 225, 5223 DE 's-Hertogenbosch, Netherlands
-------------------------------------	---

**3. Definición del 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)	adenovirus humano 5

<p>b) Identidad del OMG (género y especie):</p> <p>Género mastadenovirus, familia adenovirus, subgénero C, serotipo 5</p>
<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p>El OMG, ORCA-010, es un adenovirus competente de replicación condicional. El virus se produce en líneas celulares humanas. La estabilidad genética del OMG se confirmó con la secuenciación del genoma completo. El OMG se prueba adicionalmente mediante PCR para detectar mutaciones, inserciones y supresiones específicas del virus OMG. El análisis de digestión de restricción en ADN viral y análisis de proteínas mediante SDS-PAGE se realiza en virus purificados.</p> <p>Otros estudios de estabilidad genética (análisis de QPCR) en la línea celular de producción demostraron que ORCA-010 permanece estable en la línea celular de producción. Estos estudios se realizaron hasta 20 pases, solo se requiere 1 pase para la producción del material clínico.</p>

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

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

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

<p>Se prevé que la liberación de ORCA-010 tendrá un impacto ambiental poco significativo, ya que ORCA-010 es un derivado fuertemente atenuado de un virus común del resfrío (adenovirus 5) con un rango de huéspedes altamente restringido. El rango de huéspedes del OMG se limita a los humanos, a los hámsteres dorados y</p>
--

a las ratas Sigmodon. El hámster dorado y la rata Sigmodon no son endémicos en Europa. La especificidad de huéspedes restringida limita la persistencia del OMG en el ambiente. La exposición de plantas o animales al OMG tampoco dará como resultado efectos dañinos en ellos, debido a la incapacidad del virus de replicarse en ellos.

La incapacidad esperada de ORCA-010 de replicarse en células humanas normales reduce aún más la posibilidad de que el virus persista en caso de exposición accidental de terceros o de liberación en el ambiente. Se espera que la exposición accidental de los humanos a ORCA-010 no provoque síntomas. En el caso improbable de que ORCA-010 infecte y pueda replicarse en células proliferantes, se espera que los efectos adversos se limiten a síntomas comunes del resfrío.

Se prevé que el virus pueda propagarse a través de la orina, el semen, el tejido derivado del paciente y la sangre. Para limitar el riesgo de transmisión a terceros, se aplicarán procedimientos para trabajar con materiales infecciosos; estos procedimientos incluyen capacitación del personal del ensayo, protocolos de limpieza, el uso de ropa protectora para el personal del ensayo, el manejo de residuos, precauciones rutinarias para manipular especímenes biológicos y precauciones que debe tomar el paciente.

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

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

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

- |             |                                     |
|-------------|-------------------------------------|
| Viroide     | <input type="checkbox"/>            |
| Virus ARN   | <input type="checkbox"/>            |
| Virus ADN   | <input 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) género mastadenovirus, familia adenovirus, subgénero C, serotipo 5	
Otros, (especifíquense):	

## 2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Género: mastadenovirus
iii) Especie: adenovirus
iv) Subespecie: subgénero C
v) Cepa: serotipo humano 5
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: adenovirus humano 5

## 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	<input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico	<input checked="" type="checkbox"/>
Mediterráneo	<input checked="" type="checkbox"/>
Boreal	<input checked="" type="checkbox"/>
Alpino	<input checked="" type="checkbox"/>
Continental	<input checked="" type="checkbox"/>
Macaronésico	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) No	<input type="checkbox"/>
iii) No se sabe	<input type="checkbox"/>

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?
Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?
Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>

**4. Hábitat natural del organismo**

a) Si es un microorganismo:
Agua <input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad <input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas <input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas <input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales <input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense):
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: NA

**5. a) Técnicas de detección**

ORCA-010 puede detectarse mediante PCR utilizando cebadores específicos de ORCA-010.
--

**5. b) Técnicas de identificación**

ORCA-010 puede identificarse mediante PCR y secuenciación utilizando cebadores específicos de ORCA-010.
---

**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: Grupo/clase 2 según la directiva 90/679/CEE (Protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos en el trabajo).	

**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

animales

plantas

otros

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.

La mayoría de la población ha estado expuesta a infecciones por adenovirus y son seropositivas para el adenovirus humano 5. La inmunidad preexistente y la inmunidad pasiva contra el adenovirus 5 forman una protección natural contra la reinfección con el adenovirus 5. Las infecciones inducen una enfermedad leve y, en general, no requieren ningún tipo de atención médica y son de naturaleza autolimitada. La atención clínica para las infecciones por adenovirus se centra principalmente en el tratamiento de apoyo de los síntomas.

Las infecciones con adenovirus humano 5 se producen a través de la mucosa y los ganglios linfáticos del tracto respiratorio son de naturaleza transitoria, a menudo asintomáticas y autolimitadas en el contexto de una respuesta inmunitaria normal. En los niños, la infección puede causar enfermedades respiratorias, gastrointestinales y oculares leves.

En pacientes inmunocomprometidos (p. ej., pacientes con VIH, trasplante de médula ósea y trasplante de órganos), las infecciones por adenovirus de tipo salvaje pueden tener graves consecuencias debido a los bajos niveles de linfocitos. La ribavirina, el cidofovir, el ganciclovir y la vidarabina se han utilizado para tratar infecciones por adenovirus en estos pacientes.

## 8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: La replicación adenoviral ocurre en aproximadamente 24 horas en las células epiteliales del tracto respiratorio superior.

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: Se espera que el tiempo de replicación en las células de cáncer de próstata se prolongue en comparación con el ambiente natural.

c) Modo de reproducción Sexual  Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción: ORCA-010 solo puede replicarse en células huéspedes permisivas con ciclo celular desregulado; células de cáncer.

## 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 (especifíquense)    | X                        |

El adenovirus no forma estructuras para mejorar la capacidad de supervivencia o la latencia.

**b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia**

El adenovirus 5 es un virus estable y se ha informado que puede sobrevivir fuera del huésped en condiciones ambientales.

Los adenovirus son sensibles al pH bajo (<5) o a las bajas fuerzas iónicas que causan la agregación del virus. Las altas temperaturas (>50 °C) estimulan el desmantelamiento de la cápside, lo que provoca la inactivación del virus.

Los adenovirus pueden inactivarse con productos químicos domésticos (soluciones de cloro) u otros productos químicos (p. ej., SDS al 0.1 % y fomaldehído al 2 %).

**10. a) Vías de diseminación**

El adenovirus 5 de tipo salvaje se propaga a través del contacto oral directo con una persona infectada, los aerosoles de la tos/los estornudos y la transmisión fecal-oral. Se propagan indirectamente mediante pañuelos, utensilios para comer y otros artículos re-cién manchados con la secreción respiratoria de una persona infectada.

Los estudios en voluntarios demostraron que los contactos casuales entre individuos infectados experimentalmente con adenovirus 5 de tipo salvaje e individuos no infectados no producen la transmisión de adenovirus.

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

La diseminación se ve afectada por el nivel de intimidad del contacto y la conducta de higiene personal del individuo infectado.

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

B/NL/08/008

Notificación sobre un adenovirus oncolítico 5 con la eliminación de E1A $\Delta$ 24 y la inserción de RGD.

### 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)	

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

ORCA-010 contiene 1 supresión del gen E1A (E1A $\Delta$ 24), 1 inserción en el gen E3/19K (T1) y una inserción de RGD en el gen de fibra.

La supresión de 24 nucleótidos en el gen E1A asegura una replicación selectiva de ORCA-010. ORCA-010 no podrá replicarse en células normales con una vía pRb intacta. Aunque ORCA-010 aún puede infectar estas células, no se producirá una replicación, una lisis celular o una propagación del virus a partir de la célula infectada. Esto impide la patogenicidad del virus en comparación con el adenovirus 5 salvaje en células normales.

La mutación T1 estimula la liberación viral y mejora su potencia antitumoral. La mutación T1 es una inserción de nucleótido único (adenina) en la posición 445 del gen E3/19K, que da lugar a una forma truncada de la proteína E3/19K. La proteína E3/19K juega un papel importante en el retraso de la respuesta CTL al suprimir el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase I en el retículo endoplasmático, e impide su translocación a la superficie celular para completar la presentación de antígenos. Se ha reportado que E3/19K también participa en la evasión del reconocimiento de las células NK gracias a su capacidad de interactuar con las proteínas A y B relacionadas con la cadena MHC-I. Puesto que esta función está parcialmente alterada en la proteína E3/19K-445A, es posible que las propiedades evasivas inmunitarias de ORCA-010 se vean afectadas.

La inserción de RGD en el bucle HI de la fibra mejora la capacidad del vector de infectar células que expresan bajos niveles de CAR o no lo expresan, pero sí expresan ciertas integrinas. El componente principal de RGD-4C es un péptido de 9 aminoácidos (CDCRGDCFC) que se enlaza a las integrinas  $\alpha\beta$ 3 o  $\alpha\beta$ 5. La inserción de este componente de RGD en el bucle HI de la proteína de fibra del adenovirus da como resultado una infectividad mejorada en varias líneas de células cancerosas diferentes.

#### 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 type="checkbox"/>	No <input checked="" 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 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:	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>

iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense)	

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

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	Se realizó recombinación de homólogos para insertar las modificaciones relevantes.

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Secuencia de ADN que codifica un motivo RGD-4C cíclico.</li> <li>2. Secuencia de ADN que codifica el inserto E3/19K445 A (T1).</li> <li>3. Secuencia de ADN que codifica el gen E1A con la mutación delta 24 (<math>\Delta 24</math>)</li> </ol>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. La secuencia se obtiene a partir de la construcción de ADN adenoviral pVK526 y se recombina con la construcción adenoviral que contiene la mutación T1. El motivo RGD-4C se introdujo en el constructo adenoviral que contiene la mutación T1.</li> <li>2. Para insertar la mutación T1, se sintetizó un fragmento del gen E3/19K que contiene la mutación T1. El fragmento sintetizado se recombinó con ADN de adenovirus 5 de tipo salvaje para introducir la mutación T1.</li> <li>3. El fragmento Delta 24 E1A se obtuvo de un plásmido adenoviral que contiene la supresión de E1A<math>\Delta 24</math>. Este fragmento se recombinó con una construcción adenoviral con la inserción de RGD y la mutación T1 para generar la construcción ORCA-010.</li> </ol>

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

1. La inserción de este componente de RGD en el bucle HI de la proteína de fibra del adenovirus da como resultado una infectividad mejorada en varias líneas de células cancerosas diferentes.
2. La mutación T1 estimula la liberación viral y mejora su potencia antitumoral.
3. La supresión de 24 nucleótidos en el gen E1A asegura una replicación selectiva de ORCA-010.

---

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense):

1. El RGD está integrado en el gen de la fibra del organismo huésped (virus ORCA-010).
2. La mutación T1 está integrada en el gen E3/19K de ORCA-010.
3. El E1A $\Delta$ 24 está integrado en el genoma de ORCA-010 y reemplaza al gen E1A de tipo salvaje original.

---

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

Sí  No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

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

- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
- Otros ( especifíquense):	
Los insertos de ADN se derivan de plásmidos de ADN existentes que contienen el genoma del adenovirus 5 y las modificaciones relevantes.	
Se requieren varios pasos antes de que se pueda crear un virus vivo a partir de estos plásmidos de ADN. Estos incluyen la linealización y la eliminación del esqueleto del vector y la transfección en una línea celular humana.	

## 2. Nombre completo

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

## 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"/>
	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 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

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input type="checkbox"/>                      No <input checked="" type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>    Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input checked="" type="checkbox"/>                      No <input type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>    Especifíquese: El OMG no puede replicarse en células que tienen una vía intacta de la proteína del retinoblastoma (células humanas normales). El adenovirus salvaje puede replicarse en células humanas normales.</p> <p>    El OMG ha demostrado ser capaz de replicarse a un ritmo más rápido en células cancerosas en comparación con el adenovirus salvaje.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p style="text-align: center;">Sí <input checked="" type="checkbox"/>                      No <input type="checkbox"/>                      No se sabe <input type="checkbox"/></p>

Especifíquese: La naturaleza atenuada del OMG da como resultado una menor capacidad del OMG de propagarse desde receptores primarios y secundarios. Si el OMG es liberado al ambiente, no puede replicarse y, por ende, se reduce su propagación.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: La naturaleza atenuada del OMG reduce el potencial patógeno. Aunque el OMG es capaz de infectar células que expresan niveles bajos del receptor coxsackie adenovirus, el OMG no puede replicarse en estas células, a menos que tengan una vía desregulada de la proteína del retinoblastoma.

## 2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El OMG es genéticamente estable. El OMG utilizado para la producción fue secuenciado en su totalidad para confirmar la secuencia de ADN y la presencia de las modificaciones. Además, se hicieron numerosos pases en la línea de células productoras y se verificó su estabilidad genética mediante secuenciación y perfil de restricción. Por lo tanto, se ha demostrado que, luego de que se hicieran 20 pases de ORCA-010 MVSS en la línea de células productoras de cGMP, el virus ORCA-010 había retenido los tres elementos genéticos únicos (E1AΔ24, T1 y RGD) y no se observó ningún cambio en el perfil de análisis de ADN y proteínas. En el proceso de producción de cGMP solo ocurrirá 1 pase.

## 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 humanos siguientes?		<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

El efecto patógeno del OMG es idéntico al del virus parental. Debido a la naturaleza atenuada del OMG, se controlará la replicación para que solo ocurra en las células cancerosas. En el caso poco probable de que el OMG se replique en células normales, los efectos patógenos serán comparables a los causados por el virus parental Ad5. En las personas inmunocompetentes, las infecciones con Ad5 son asintomáticas y autolimitadas, y no requieren tratamiento.

Los estudios de biodistribución preclínica en hámsteres dorados, un modelo animal que permite replicación de adenovirus, demuestran que el OMG permanece en la cavidad abdominal luego de la inyección en la próstata. El ADN de ORCA-010 fue detectado en la próstata, en la vejiga, en los riñones, en el hígado, en el bazo y en los ganglios linfáticos mesentéricos. La sangre, el cerebro, las gónadas, la médula ósea, el corazón y los pulmones arrojaron resultados negativos para la presencia de ADN de ORCA-010.

Los estudios de toxicidad preclínica demuestran que la administración intraprostática e intravenosa del OMG es bien tolerada y no induce toxicidades limitantes de dosis.

La administración del OMG inducirá una respuesta inmunitaria antiviral, incluso en caso de ausencia de replicación viral. Por lo tanto, al igual que en las infecciones con Ad5, la infección provocada por el OMG será autolimitada debido a una respuesta inmunitaria evocada.

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

- a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

La presencia de ADN del OMG se puede detectar en materiales derivados del paciente mediante PCR cuantitativa específica, con un par de cebadores de amplificación específicos para el gen de la fibra de adenovirus y una sonda fluorescente TaqMan® específica para el inserto de codificación RGD en el gen de la fibra.

Para detectar la presencia de virus infecciosos, se puede realizar un ensayo de infección y un ensayo de placa. En estos ensayos, se puede determinar la expresión viral de hexón y los efectos citopatógenos. La identidad del virus en el ensayo de placa se puede confirmar mediante PCR cuantitativa y secuenciación.

- b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

PCR cuantitativa específica, con un par de cebadores de amplificación específicos para el gen de la fibra de adenovirus y una sonda fluorescente TaqMan® específica para el inserto de codificación RGD en el gen de la fibra. La secuenciación de la región E1A, T1 y RGD del virus se puede utilizar para confirmar aún más la identidad del OMG.

**F. Información sobre la liberación**

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

El cáncer de próstata es una de las afecciones más comunes entre los hombres occidentales. La mayoría de los hombres con diagnóstico de cáncer de próstata en países occidentales se presentan con una enfermedad localizada (>80 %). Las opciones de tratamiento para estos pacientes son la cirugía (prostatectomía), la radioterapia (terapia de haz externo y braquiterapia) y las terapias ablativas localizadas como la crioterapia y la ablación por radiofrecuencia. Sin embargo, la mayoría de estas opciones de tratamiento conllevan una morbilidad considerable, como impotencia, incontinencia, complicaciones quirúrgicas y, para un porcentaje significativo de pacientes, este tratamiento falla, dando como resultado crecimiento y metástasis fatal del tumor. No obstante, existe una necesidad apremiante de mejorar la eficacia de la prostatectomía radical, por ejemplo, mediante una terapia adyuvante con adenovirus oncolíticos.

Los estudios in vitro han demostrado que ORCA-010 se replica selectivamente en células cancerosas y las mata, entre ellas, las células del cáncer de próstata. Asimismo, la evaluación de ORCA-010 en modelos tumorales con xenoinjertos in vivo en ratones desnudos mostró que ORCA-010 inhibió notablemente el crecimiento de tumores de próstata, pulmón y ovario y que dotó de una supervivencia prolongada a los animales con tumores o libres de tumores. Además, el virus ORCA-010 puede actuar mediante un segundo mecanismo de acción en los pacientes induciendo una respuesta inmunitaria antitumoral, derivada de las respuestas de célula T inducidas por replicación de adenovirus junto con la liberación de antígenos asociados al tumor posterior a la lisis celular.

En este ensayo clínico, evaluaremos la seguridad y la eficacia de ORCA-010 en pacientes con cáncer de próstata localizado. El monitoreo de los cambios en el sistema inmunitario y de las respuestas inmunitarias antitumorales permitirán comprender mejor el mecanismo activo de la inmunoterapia oncolítica.

**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): España
b) Área del lugar (m <sup>2</sup> ): i) lugar real de la liberación (m <sup>2</sup> ): aprox. 30-40 m <sup>2</sup> El personal bien capacitado en una unidad ambulatoria administrará el

OMG al paciente mediante una inyección intraprostática en una sala de tratamiento de pacientes estándar.

ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): No corresponde.

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No corresponde.

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

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

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Un máximo de 50 pacientes se inscribirán en el estudio clínico propuesto. La dosis total varía entre  $1 \times 10^{11}$  partículas virales y  $3 \times 10^{12}$  partículas virales por sujeto.

b. Duración de la operación: El procedimiento de inyección de OMG tomará alrededor de 30 a 60 minutos.

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

El transporte de OMG o materiales contaminados con OMG producirá triple contenido con suficiente material de absorción en el contenedor primario para fugas accidentales o roturas de los viales.

La administración, el monitoreo y el muestreo serán realizados por profesionales de la salud capacitados, siguiendo los procedimientos locales para el manejo de materiales clínicos infecciosos.

La sala de tratamiento y monitoreo se limpiará exhaustivamente según los procedimientos locales para la contaminación viral infecciosa.

Los residuos generados se recogerán en contenedores sellables para los residuos infecciosos y se destruirán.

Se instruirá a los pacientes sobre la limpieza del inodoro y el manejo de materiales contaminados. Se proporcionarán los reactivos de inactivación adecuados para la inactivación del virus en la excreción.

Se instruirá al personal del ensayo sobre el uso seguro del OMG y los riesgos asociados de trabajar con un adenovirus oncolítico. Durante la inyección del virus, el personal del ensayo y el paciente usarán ropa protectora desechable, incluidos guantes, máscara y gafas.

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

No corresponde

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

Este es el primer estudio clínico en el que se utilizará el OMG, por lo que no se dispone de datos sobre los posibles impactos ambientales y para la salud humana.

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

1. Nombre del organismo diana (si procede)

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

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

Se prevé que el OMG infectará a las células cancerosas en los pacientes. Después de la infección, el OMG se replicará en estas células y las matará mediante lisis. El virus derivado del OMG liberado durante la lisis puede infectar y matar a las células tumorales no infectadas. La presencia del adenovirus y la inducción de la lisis de las células tumorales también estimularán una respuesta inmunitaria en el tumor. Diversos estudios preclínicos y clínicos han demostrado que el tratamiento con adenovirus da como resultado una respuesta inmunitaria antitumoral mejorada.

El objetivo principal del ensayo es investigar la seguridad de administrar el OMG a la próstata de pacientes con cáncer de próstata y obtener una primera indicación de la eficacia antitumoral del tratamiento.

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

La infección de otros organismos que no sean humanos tendrá como resultado la

replicación abortiva y la eliminación del OMG. Los hámsteres dorados y las ratas Sigmodon son excepciones a lo anterior; ambos son semipermissivos a la replicación del adenovirus. El hábitat natural de los hámsteres dorados y de las ratas Sigmodon se encuentra al norte de Siria/sur de Turquía y en América, respectivamente. En el caso improbable de infección de estos organismos, no se prevé una replicación debido a la naturaleza atenuada del OMG.

En el caso improbable de que el OMG y el adenovirus salvaje infecten la misma célula humana, en teoría, puede ocurrir una recombinación entre el OMG y wt Ad5 en dicha célula. El recombinante derivado puede poseer propiedades de replicación salvaje (E1A), un tropismo celular expandido (RGD) o liberación viral mejorada (T1). Los recombinantes pueden tener más propiedades patógenas que wt Ad5. La presencia de T1 mejora la liberación viral in vitro; sin embargo, los efectos in vivo de esta mutación aún se desconocen. Puesto que el gen E3/19K está involucrado en la evasión inmunitaria, la presencia de la mutación T1 puede dar lugar a una respuesta inmunitaria antiviral acelerada. El OMG se administrará en la próstata de los pacientes. Los estudios preclínicos demostraron que el OMG permanece en la cavidad abdominal tras la administración intraprostática y no se disemina al tracto respiratorio superior; el sitio de infección natural para wt Ad5. Además, como los adenovirus son genéticamente muy estables, es improbable que ocurran eventos de recombinación

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 type="checkbox"/>	No se sabe X
----	-----------------------------	--------------

Especifíquese: Se espera que el OMG sea menos patógeno en comparación con el wt Ad5 debido a las modificaciones. Sin embargo, en el improbable caso de recombinación, como se describe en la sección G3, el OMG puede ser más competitivo que el wt Ad5.

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 la naturaleza atenuada del OMG, es poco probable que este organismo pueda establecerse en el ambiente.

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

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:

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

## 7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Los adenovirus son muy estables genéticamente. El intercambio in vivo del OMG a otros organismos es muy improbable.
b) De otros organismos al OMG: Los adenovirus son muy estables genéticamente. El intercambio in vivo de otros organismos en el OMG es altamente improbable.
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Las consecuencias de la transferencia de wt Ad5 E1A al OMG o de la transferencia de T1 o RGD serían un adenovirus con propiedades de replicación en estado natural (E1A), un tro-pismo celular expandido (RGD) o liberación viral mejorada (T1), o un adenovirus con las propiedades de replicación selectiva (E1A□24) con RGD o T1. Los recombinantes pueden tener más propiedades patógenas que wt Ad5. La presencia de T1 mejorará la liberación viral in vi-tro; sin embargo, los efectos in vivo de esta mutación aún se desconocen. Puesto que el gen E3/19K está involucrado en la evasión inmunitaria, la presencia de la mutación T1 puede dar lugar a una respuesta inmunitaria antiviral acelerada.

## 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.)

Este será el primer estudio con este OMG en humanos. Por lo tanto, no hay datos disponibles sobre el comportamiento y las características del OMG.
--

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

No se prevén interacciones significativas.
--

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

La sangre y la orina se recolectarán antes y después de la administración para determinar la presencia del OMG mediante PCR cuantitativa. Las muestras también
--

se analizan en busca de virus funcionales por infección o ensayo de placa.

Las pruebas se realizarán los días 1, 3, 7, 14, 28, 42, 91, 181 y 365. Para los pacientes que re-ciben una segunda dosis de ORCA-010 en el día 14, se tomarán muestras adicionales los días 15, 17 y 21.

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

No requerido. Los riesgos y los efectos adversos del OMG en el ecosistema son insignificantes debido a la naturaleza atenuada del OMG.

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

En el improbable caso de transferencia de material genético del OMG, el material genético puede detectarse mediante Q-PCR y secuenciación para detectar la presencia de E1A□24, RGD y T1.

Sin embargo, como no se espera la transferencia de material genético donado del OMG a otros organismos, no se requiere monitoreo.

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

No corresponde. Solo se monitoreará la sangre y la orina del sujeto después de la administración.

## 5. Duración del seguimiento

Hasta 365 días después de la administración.

## 6. Frecuencia del seguimiento

El monitoreo se realizará los días 1, 3, 7, 14, 28, 42, 91, 181 y 365. Para los pacientes que re-ciben una segunda dosis de ORCA-010 en el día 14, se tomarán muestras adicionales los días 15, 17 y 21.

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

## 1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La sala de tratamiento se limpiará con una solución inactivadora de virus. Posteriormente, la habitación se limpiará de acuerdo con los procedimientos de limpieza estándar del hospital para materiales infecciosos.

## 2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Después del tratamiento, el OMG restante se etiquetará claramente con un signo de riesgo biológico y se almacenará doble contenido a  $\leq -65$  °C hasta su envío a un laboratorio externo para su análisis. El material se enviará de conformidad con el Acuerdo Europeo sobre el transporte internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera (ADR). Las muestras se triplicarán para el envío y el contenedor externo

se etiquetará con un signo de riesgo biológico.

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

Los residuos esperados son jeringas usadas para la administración de virus, vendajes para heridas, ropa de cama, paños de limpieza desechables, ropa desechable que lleva el paciente, el personal y el visitante, y excretas de los pacientes.

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

Los residuos se tratarán de acuerdo con los procedimientos operativos estándar del hospital para los residuos médicos infecciosos generados en el hospital.

Los residuos líquidos se tratarán con una solución inactivadora de virus.

Las excretas de los pacientes se tratarán con una solución inactivadora de virus.

**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**

Se han implementado procedimientos de higiene hospitalaria que describen las medidas que deben tomarse en caso de un incidente de derrame que involucre materiales infecciosos o la exposición accidental de profesionales de la salud.

Los OMG derramados se limpiarán con pañuelos empapados en solución desinfectante y, posteriormente, con pañuelos secos. Todos los materiales, tejidos y guantes recolectados que se usan durante la ejecución del procedimiento de limpieza se eliminan de acuerdo con los procedimientos para residuos de hospitales infecciosos contaminados.

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

Consulte la sección J.1., el área contaminada se limpiará de acuerdo con el procedimiento del hospital para el material infeccioso del hospital. El material utilizado para la limpieza del área se desechará de acuerdo con los procedimientos para residuos hospitalarios contaminados.

**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 corresponde.

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

Los pacientes se monitorearán por la ocurrencia de eventos adversos graves (SAE). Cada SAE se registrará y evaluará, y se notificará a las autoridades sanitarias cuando sea pertinente.

Según la evaluación de riesgos ambientales, los riesgos ambientales asociados con el

ensayo clínico propuesto son insignificantes. Por lo tanto, además de las precauciones tomadas durante el ensayo, no se requiere ningún plan de protección ambiental adicional.