



TG4010

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

25 Mayo 2011

ÍNDICE

| | | |
|----|---|----|
| A. | Información de carácter general | 4 |
| B. | Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG..... | 6 |
| C. | Información sobre la modificación genética | 10 |
| D. | Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)..... | 13 |
| E. | Información sobre el organismo modificado genéticamente | 16 |
| F. | Información sobre la liberación..... | 18 |
| G. | Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre éste, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental | 20 |
| H. | Información sobre el seguimiento | 22 |
| I. | Información sobre el tratamiento post-liberación y el tratamiento de residuos | 23 |
| J. | Información sobre planes de actuación en caso de emergencia | 23 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|-----------|--|
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| ADNc | Ácido desoxirribonucleico complementario |
| AmpR | Resistencia a la ampicilina (<i>Ampicillin resistance</i>) |
| BHK | Riñón de cría de hámster (<i>Baby hamster kidney</i>) |
| CDC | <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centros de epidemiología de Estados Unidos) |
| CEE | Comunidad Económica Europea |
| CPH | Complejo principal de histocompatibilidad |
| DP | Medicamento (Drug product) |
| FEP | Fibroblastos de embrión de pollo |
| IL2 | Interleucina 2 |
| MUC1 | Mucina 1 |
| MVATG9931 | Vector recombinante |
| MVS | Cepa viral madre (<i>Master virus seed</i>) |
| OMG | Organismo modificado genéticamente |
| PMVS | Antes de la cepa viral madre (<i>Pre master virus seed</i>) |
| pTG9931 | Plásmido de transferencia |
| RCP | Reacción en cadena de la polimerasa |
| SC | Subcutáneo |
| TG4010 | OMG final, suspensión viral de MVATG9931 |
| VV | Virus variolovacunal |
| VVAM | Virus variolovacunal Ankara modificado |
| WVS | Cepa viral de trabajo (<i>Working virus seed</i>) |

A. INFORMACIÓN DE CARÁCTER GENERAL

1. Detalles de la notificación

- a) Estado miembro de la notificación *España*
- b) Número de la notificación *B/ES/11/28*
- c) Fecha del acuse de recibo de la notificación
- d) Título del proyecto

El proyecto, el ensayo clínico TG4010.14, se titula “Estudio de fase IIb/III aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de comparación del tratamiento de primera línea con o sin el producto de inmunoterapia TG4010 en pacientes con cáncer pulmonar no microcítico (CPNM) en estadio IV”.

- e) Periodo propuesto para la liberación *Desde diciembre de 2011 hasta diciembre de 2015 (fecha de finalización del estudio)*

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa

Promotor: Transgene SA

Boulevard Gonthier d’Andernach

Parc d’Innovation

CS80166

67405 Illkirch Graffenstaden cedex - Francia

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"/> |

- otro, especifíquese (reino, *phylum* y clase):...

- b) Identidad del OMG (género y especie):

El organismo modificado genéticamente (OMG) final es TG4010 y consiste en un vector recombinante poco replicativo del virus variolovacunal, que consta del genoma del virus variolovacunal Ankara modificado (VVAM) en el que se han insertado transgenes que codifican dos proteínas: la mucina 1 (MUC1) humana y la interleucina 2 (IL2) humana.

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

Se diseñó un programa de estabilidad genética para evaluar la estabilidad genética de TG4010 en varios pasos del proceso de fabricación: antes de la cepa del virus madre 1 (PMVS1), cepa del virus madre (MVS), medicamento terminado y medicamento + 3 pases. Asimismo, se llevó a cabo un estudio en condiciones aceleradas mediante 6 subpases de la PMVS1 a escala de laboratorio. Los resultados del estudio de estabilidad genética realizado en el vector MVATG9931 derivado del lote de MVS cumplen los criterios de aceptación y permiten el uso del vector en estudios clínicos. Hoy se ha producido una cepa de virus de trabajo (WVS) y está previsto realizar análisis en lotes nuevos del medicamento y en los sucesivos pases virales (3 pases después de los lotes del medicamento producidos a partir de la WVS).

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 No

En caso afirmativo indique los códigos de los países:

BE, BG, FR, DE, HU, IT, PL, ES y GB

Utilice los siguientes códigos de países:

Austria AT; Bélgica BE; Bulgaria BG; Chipre CY; República Checa CZ; Dinamarca DK; Estonia EE; Finlandia FI; Francia FR; Alemania DE; Grecia GR; Hungría HU; Irlanda IE; Italia IT; Letonia LV; Lituania LT; Luxemburgo LU; Malta MT; Países Bajos NL; Polonia PL; Portugal PT; Rumanía RO; República Eslovaca SK; Eslovenia SI; España ES; Suecia SE; Reino Unido GB.

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

Sí No

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 No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación *Israel y Estados Unidos de América*
- Número de la notificación *Notificación prevista*

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

La probabilidad de que TG4010 se vuelva persistente e invasor en hábitat naturales es muy baja por los motivos siguientes:

- No se conoce ningún poxvirus humano que sea capaz de complementar al VVAM (virus parental de TG4010) para generar un virus competente para la replicación.
- No se ha documentado nunca una reversión espontánea del VVAM a un virus variolovacunal (VV) competente para la replicación (VV).
- TG4010 no puede producir partículas de vectores de progenie en células humanas primarias; además, en los estudios en el ser humano, TG4010 permaneció localizado aparentemente en el lugar de inyección, ya que no pudo detectarse ácido desoxirribonucleico (ADN) vector mediante reacción en cadena de la polimerasa (RCP) en la orina ni la sangre de los pacientes (n=94). De acuerdo con estas observaciones, se considera improbable que se produzca una diseminación importante de partículas infecciosas.

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"/> |

- otro, especifíquese (reino, *phylum* y clase)

2. Nombre

- | | |
|---|---|
| (i) Orden y taxón superior (animales) | <i>Poxviridae</i> |
| (ii) Género | <i>Ortopoxvirus</i> |
| (iii) Especie | <i>Virus variolovacunal</i> |
| (iv) Subespecie | |
| (v) Cepa | <i>Virus variolovacunal Ankara modificado</i> |
| (vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.) | |
| (vii) Nombre vulgar | VVAM |

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

El organismo parental no está presente de forma natural en el medio ambiente.

c) ¿Se utiliza a menudo en el país donde se realiza la notificación?

Sí No

d) ¿Se mantiene a menudo en el país donde se realiza la notificación?

Sí No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo

Agua
Suelo, en libertad
Suelo, en simbiosis con sistemas radiculares de plantas
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas
En simbiosis con animales

Otros especifíquense

El organismo parental no está presente de forma natural en el medio ambiente.

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

No procede.

5. (a) *Técnicas de detección*

Véase el apartado 5.(b).

5. (b) *Técnicas de identificación*

La identidad del vector puede confirmarse mediante RCP. El ADN se extrae de la muestra evaluada utilizando un kit comercial. Después se realiza la RCP con un conjunto específico de cebadores de MVATG9931, diseñados en el fragmento insertado genético y en las secuencias virales flanqueantes. Los productos de amplificación se separan mediante electroforesis en gel de agarosa y se clasifican según el tamaño mediante comparación con un marcador del tamaño del ADN.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese

En cuanto a la clasificación del riesgo, el virus variolovacunal humano se clasifica como un agente biológico del grupo 2, con arreglo a la clasificación de la Comunidad Económica Europea (CEE) para la protección de los trabajadores expuestos a agentes biológicos (Directiva 2000/54/CE).

La cepa VVAM no se ha clasificado. Sin embargo, VVAM es una cepa muy atenuada del virus variolovacunal, obtenida después de varios pases en fibroblastos de embrión de pollo (FEP) primarios. Se replica en el compartimento citoplásmico de la célula y no puede propagarse en el ser humano.

El personal de laboratorio y el personal sanitario de otro tipo que trabajen con cepas muy atenuadas del virus variolovacunal (por ejemplo, VVAM) no necesitan vacunación antivariólica sistemática. Además, no se han publicado informes de transmisión de los receptores de la vacuna a los profesionales sanitarios.

Aunque no se ha establecido ningún sistema de vigilancia formal para el control de los técnicos de laboratorio, no se han publicado en la bibliografía científica casos de infecciones contraídas en el laboratorio como consecuencia de la exposición a esta cepa muy atenuada o a vacunas recombinantes derivadas de esta cepa, ni se han comunicado a los Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (Vaccinia (Smallpox) Vaccine: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), June 22, 2001 / 50(RR10);1-25 (<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5010a1.htm>)).

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo:

- a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

| | |
|----------|--------------------------|
| Humanos | <input type="checkbox"/> |
| Animales | <input type="checkbox"/> |
| Plantas | <input type="checkbox"/> |
| Otros | <input type="checkbox"/> |

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

El VVAM presenta una gran limitación en cuanto a células huésped, replicándose de forma eficaz en FEP y en células de riñón de cría de hámster (BHK), pero no en células humanas ni en la mayoría de las demás células de mamífero analizadas. En las células no permisivas, no existe producción de viriones que puedan propagarse e infectar otras células. Tampoco hay riesgo de integración en el genoma celular del huésped, pues el VVAM permanece en el citoplasma.

El VVAM no es patógeno para los animales, ya que se administró en varias especies (ratones, lechones, terneros, perros, gatos, macacos y elefantes) y no se observaron efectos secundarios importantes. El VVAM tampoco es patógeno en las aves adultas.

Se demostró asimismo que el VVAM es seguro en el ser humano durante las campañas de vacunación antivariólica en Alemania en los años setenta. Las reacciones adversas más frecuentes notificadas en los pacientes que recibieron vacunas basadas en el VVAM han sido reacciones en el lugar de inyección, cefalea, cansancio, malestar general y fiebre.

8. Información sobre reproducción

- a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

No procede, ya que el VVAM no está presente de forma natural en el medio ambiente. Además, como ya se ha explicado, el VVAM presenta una gran limitación en cuanto a células huésped y se replica de forma eficaz en FEP y en células BHK, pero no en células humanas ni otras células de mamífero.

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

No procede.

- c) Modo de reproducción: Sexual Asexual

No procede.

- d) Factores que afectan a la reproducción :

No procede.

9. Capacidad de supervivencia

- a) de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o letargo:

| | |
|-------------------|--------------------------|
| (i) endosporas | <input type="checkbox"/> |
| (ii) quistes | <input type="checkbox"/> |
| (iii) esclerocios | <input type="checkbox"/> |

- (iv) esporas asexuales (hongos)
- (v) esporas sexuales (hongos)
- (vi) huevos
- (vii) pupas
- (viii) larvas
- (ix) otras (especifíquense)...

No procede.

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

Los vectores VVAM se destruyen con lejía al 0,5% de cloro activo (es decir, 5 g/l de cloro activo) o mediante esterilización con autoclave a 121 °C durante 20 minutos.

10.(a) Vías de diseminación

El OMG, al igual que el VVAM, permanece localizado en el citoplasma hasta la destrucción de la célula. No se ha observado diseminación del virus en el ensayo clínico previo realizado con el OMG. Se supone que el OMG se mantiene localizado en el lugar de la inyección. Se han notificado observaciones semejantes con otros vectores VVAM recombinantes desarrollados por Transgene.

10. (b) Factores que afectan a la diseminación

No procede.

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 procede.

C. INFORMACIÓN SOBRE LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Tipo de modificación genética

- i. Inserción de material genético
- ii. Eliminación de material genético
- iii. Sustitución de una base
- iv. Fusión celular
- v. Otro (especifíquese):

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado que se pretende conseguir mediante la modificación genética es terapéutico. El OMG, TG4010, un VVAM recombinante que codifica la MUC1 y la IL2 humanas, se administrará a los pacientes mediante inyección subcutánea (SC). En el espacio SC, el OMG puede transducir células, incluidas las dendríticas, y en el ganglio linfático que drena el lugar de inyección, que está alejado del entorno local tolerógeno de la propia lesión, expresar y presentar epítomos de MUC1 e IL2. En este contexto, debería permitirse el desarrollo de una respuesta inmunitaria celular dirigida.

La estrategia de TG4010 consiste en inducir la expresión del antígeno MUC1 en un ambiente no tumoral, es decir, donde el sistema inmunitario sea completamente funcional, para inducir:

- *Una inmunidad específica: presentación del antígeno tumoral MUC1 a los linfocitos T a través de las moléculas (clases I y II) del complejo principal de histocompatibilidad (CPH) que pueden inducir respuestas inmunitarias celulares y humorales específicas.*
- *Una activación inespecífica del sistema inmunitario mediante la infección por el virus variolovacunal y la activación de la IL2.*

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

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

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

Sí

No

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 (especifíquese):

b) Identidad del vector

pTG9931

c) Gama de organismos huéspedes del vector

Escherichia coli

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí

No

Resistencia a los antibióticos

Otras (especifíquense)

Gen marcador GPT que codifica la xantina-guanina fosforribosil transferasa (utilizado como marcador de selección para el VVAM recombinante).

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta

Gen de resistencia a la ampicilina (AmpR): La secuencia de AmpR no está finalmente contenida en el fragmento de ADN que se inserta en el receptor.

a) Fragmentos constituyentes del vector

El plásmido pTG9931 contiene secuencias de ADN que codifican la proteína MUC1 humana y la IL2 humana. Estas secuencias están flanqueadas por 2 regiones genómicas del VVAM (BRD2, BRG2) que permiten la recombinación homóloga entre el plásmido pTG9931 y el organismo receptor (es decir, el VVAM).

b) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i. transformación
- ii. electroporación
- iii. macroinyección
- iv. microinyección
- v. infección
- vi. otros (especifíquense)

Recombinación homóloga entre VVAM y pTG9931 en FEP.

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

- i. transformación
- ii. microinyección
- iii. microencapsulación
- iv. macroinyección
- v. otros (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción

a) Composición del fragmento de inserción

El fragmento de inserción contiene los dos genes donantes: MUC1 e IL2. Contiene además promotores del virus variolovacunal para la expresión de transgenes (es decir, pH5R, p7.5).

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción

Las secuencias donantes principales son el gen MUC1 (DONANTE 1) y el gen IL2 humano (DONANTE 2).

El ADN complementario (ADNc) de MUC1 se aisló de células T47D, una estirpe celular de carcinoma de mama humano.

El ADNc de la IL2 humana se aisló de linfocitos de sangre periférica activados por mitógenos.

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

TG4010 es una inmunoterapia dirigida contra MUC1 derivada de una cepa del VV defectuosa para la replicación (VVAM), genomanipulada para expresar proteína MUC1 e IL2 humana no modificada.

La proteína MUC1 es una mucina muy glucosilada que normalmente se encuentra en la superficie apical de las células epiteliales secretoras de mucinas en muchos tipos de tejido, como mama, pulmón, páncreas, estómago, ovarios, trompas de Falopio, intestino y riñón. El cáncer de pulmón, mama, próstata, páncreas, ovarios o útero y otras neoplasias malignas se acompañan a menudo de una sobreexpresión del antígeno MUC1 por las células tumorales. Esta proteína MUC1 sobreexpresada por las células tumorales está menos glucosilada que la forma normal de la MUC1, lo que revela nuevos epítomos antigénicos de péptidos e hidratos de carbono. Estas diferencias inmunológicas entre la MUC1 de las células normales y las tumorales la convierten en una diana para la inmunoterapia. Además, la oncoproteína MUC1 parece seleccionarse positivamente durante la progresión tumoral, por lo que la vacunación terapéutica contra MUC1 puede ser eficaz incluso en la enfermedad avanzada.

La IL2 humana es una citocina que ha demostrado ser un factor esencial en la manifestación de inmunidad celular y humoral, así como para las respuestas inmunitarias primaria y secundaria. Esta citocina se incluye, por tanto, para que actúe como adyuvante en la respuesta inmunitaria.

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor

- En un plásmido libre
- Integrado en el cromosoma
- Otros (especifíquense)

El fragmento de inserción se integra totalmente en el genoma del VVAM mediante recombinación homóloga.

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o funciones 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)

MUC1

1. Indíquese si es:

- Viroide
- Virus ARN
- Virus ADN
- bacteria
- hongo
- animal
- mamíferos
- insectos
- peces

- otro animal
- otro, especifíquese (reino, *phylum* y clase)

2. *Nombre completo*

- i. Orden y taxón superior (animales)
- ii. Familia
- iii. Género *Homo*
- iv. Especie *Sapiens*
- v. Subespecie
- vi. Cepa
- vii. Cultivar/línea de reproducción
- viii. Patovar
- ix. Nombre vulgar *Ser humano*

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

Sí No No se sabe

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 No No se sabe

En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A.

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

Sí No

En caso afirmativo, especifíquese

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

Sí No No se sabe

IL2

1. Indíquese si es:

| | |
|--|-------------------------------------|
| Viroide | <input type="checkbox"/> |
| Virus ARN | <input type="checkbox"/> |
| Virus ADN | <input type="checkbox"/> |
| Bacteria | <input type="checkbox"/> |
| Hongo | <input type="checkbox"/> |
| Animal | <input type="checkbox"/> |
| - Mamíferos | <input checked="" type="checkbox"/> |
| - Insectos | <input type="checkbox"/> |
| - Peces | <input type="checkbox"/> |
| - Otro animal | <input type="checkbox"/> |
| - otro, especifíquese (reino, <i>phylum</i> y clase) | |

2. Nombre completo

| | |
|---------------------------------------|-------------------|
| x. Orden y taxón superior (animales): | |
| xi. Familia | |
| xii. Género | <i>Homo</i> |
| xiii. Especie | <i>Sapiens</i> |
| xiv. Subespecie | |
| xv. Cepa | |
| xvi. Cultivar/línea de reproducción | |
| xvii. Patovar | |
| xviii. Nombre vulgar | <i>Ser humano</i> |

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

Sí No No se sabe

En caso afirmativo, especifíquese

c) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

| | |
|----------|--------------------------|
| Humano | <input type="checkbox"/> |
| Animales | <input type="checkbox"/> |
| Plantas | <input type="checkbox"/> |
| Otros | <input type="checkbox"/> |

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

Sí No No se sabe

En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A.

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

Sí No

En caso afirmativo, especifíquese

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

Sí No No se sabe

E. INFORMACIÓN SOBRE EL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE

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

(a) *¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?*

Sí No No se sabe

Especifíquese

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

Sí No No se sabe

Especifíquese

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

Sí No No se sabe

Especifíquese

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

Sí No No se sabe
Especifíquese

2. *Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente*

Se diseñó un programa de estabilidad genética para evaluar la estabilidad genética de TG4010 en varios pasos del proceso de fabricación: PMVS1, MVS, DP y DP + 3 pases.

Los resultados del estudio de estabilidad genética realizado en el vector MVATG9931 derivado del lote de MVS cumplen los criterios de aceptación y permiten el uso del vector en estudios clínicos. Hoy se ha producido una WVS y está previsto realizar análisis en lotes nuevos de TG4010 y en los sucesivos pases virales (3 pases después de los lotes de TG4010 producidos a partir de la WVS).

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

Sí No No se sabe
En caso afirmativo

(a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?

Humanos
Animales
Plantas
Otros

(b) Aporte la información pertinente especificada bajo el anexo III (A) punto II (A)(11) (d) y II (C)(2)(i)

No procede.

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

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

Identidad del vector: *El ADN se extrae de la muestra problema utilizando un kit comercial. Después se realiza la RCP con un conjunto específico de cebadores de MVATG9931, diseñados en el fragmento insertado genético y en las secuencias virales flanqueantes. Los productos de amplificación se separan mediante electroforesis en gel de agarosa y se clasifican según el tamaño mediante comparación con un marcador del tamaño del ADN.*

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG

La identidad del OMG puede confirmarse mediante RCP como se ha descrito anteriormente.

F. INFORMACIÓN SOBRE LA LIBERACIÓN

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

La liberación en este contexto consistirá en la administración del producto, en un hospital o consulta, mediante inyección SC a los pacientes como parte del protocolo de un ensayo clínico multinacional y multicéntrico. No se prevé ningún problema de esta liberación.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese

No procede. El OMG y el VVAM no están presentes de forma natural en el medio ambiente. La liberación actual puede compararse con el uso del VVAM durante la campaña de erradicación de la viruela.

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

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

TG4010 se administrará en los centros clínicos siguientes:

| <i>Investigador</i> | <i>Centro</i> |
|----------------------------|---|
| <i>Dra. Yolanda García</i> | <i>Consorci Sanitari Parc Taulí Parc Taulí s/n 08208 Sabadell Barcelona</i> |
| <i>Dra. Rosa Álvarez</i> | <i>Hospital Gregorio Marañón C/ Doctor Esquerdo, 46 28007 Madrid</i> |

b) *Área del lugar (m²):*

i. *Lugar real de la liberación (m²):*

Véase más adelante.

ii. *Área de liberación más amplia (m²):*

No se requiere un lugar de tamaño específico. La sala donde se tratará a los pacientes es una habitación hospitalaria convencional.

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

No procede.

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

No procede.

4. Método y amplitud de la liberación

- a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse

Los pacientes del grupo de tratamiento recibirán inyecciones SC de TG4010 en la dosis de 10^8 ufp todas las semanas durante 6 semanas y posteriormente cada 3 semanas hasta la progresión. A la vista del número previsto de pacientes en el ensayo clínico y del número medio de inyecciones por paciente, se calcula que la cantidad de OMG que se liberará en todos los centros clínicos de todos los países del estudio es de $1,5 \times 10^{12}$ UFP.

- b) Duración de la operación

La duración de la operación se extiende desde la primera administración del tratamiento del estudio hasta la última administración del tratamiento del estudio, según el calendario de administración descrito anteriormente.

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

El OMG se libera exclusivamente para uso clínico, se suministra en viales cerrados y está debidamente etiquetado. La administración será responsabilidad del investigador, y se hará de conformidad con el protocolo clínico y en cumplimiento de la Buena Práctica Clínica. El producto debe prepararse en condiciones asépticas que cumplan los requisitos estipulados para preparaciones inyectables. La zona donde se prepare TG4010 para la inyección se descontaminará antes y después de la manipulación con una solución basada en un desinfectante convencional (por ejemplo, lejía >0,5% Cl, es decir, 5 g de cloro activo por litro de agua u otro desinfectante activo).

En las manipulaciones es obligatorio el uso de gafas de protección y bata de laboratorio, y se recomienda el uso de guantes. Todas las transferencias del preparado deberán realizarse empleando un recipiente cerrado. Además, el personal del centro seguirá el procedimiento estándar del hospital o la clínica recomendado para la manipulación de las vacunas de virus vivos.

En caso de diseminación accidental de TG4010, todas las superficies contaminadas se tratarán de conformidad con los procedimientos convencionales del hospital para productos infecciosos. Todo el personal que intervenga en la manipulación del producto será informado de que, en caso de contaminación cutánea, la piel debe lavarse inmediatamente con agua abundante y desinfectarse localmente con yodo al 4%; en caso de contaminación ocular, se recomienda lavar y aclarar bien los ojos solo con agua y un examen por un oftalmólogo lo antes posible.

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

No procede.

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

Desde 1999 este producto se ha liberado en el contexto de 7 ensayos clínicos. Un total de 270 pacientes han sido tratados con 1 inyección como mínimo. Se ha comprobado que TG4010 ha sido en general seguro y bien tolerado durante estos ensayos; el principal acontecimiento adverso notificado ha consistido en reacciones en el lugar de inyección.

G. INTERACCIONES DEL OMG CON EL MEDIO AMBIENTE Y REPERCUSIONES POTENCIALES SOBRE ÉSTE, SI ES APRECIABLEMENTE DIFERENTE DEL ORGANISMO RECEPTOR O PARENTAL

1. *Nombre del organismo objeto de investigación (si procede)*

- xix. Orden y taxón superior (animales):
- xx. Familia
- xxi. Género *Homo*
- xxii. Especie *Sapiens*
- xxiii. Subespecie
- xxiv. Cepa
- xxv. Cultivar/línea de reproducción
- xxvi. Patovar
- xxvii. Nombre vulgar *Ser humano*

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

Se espera que TG4010 induzca una respuesta inmunitaria celular específica de la MUC1 y que produzca una activación inespecífica de varios componentes del sistema inmunitario.

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

Hay un potencial mínimo de transmisión genética a otras especies según la liberación propuesta del OMG. Como ya se ha mencionado, el OMG se liberará en una sala de exploración clínica convencional y es improbable que entre en contacto con otras especies animales. Para que los genes virales codificados por TG4010 puedan transmitirse al genoma de otras especies de poxvirus, las células sensibles tendrían que infectarse simultáneamente por el virus variólico y coinfectarse por el vector, lo que es extremadamente improbable.

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 No se sabe

Especifíquese

No se ha conferido ninguna ventaja o desventaja selectiva a TG4010 y el VVAM parental no es endémico en la población humana.

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

No se espera que TG4010 interacte con organismos no diana, debido a que su gama de huéspedes es muy limitada y al tipo de liberación propuesta. En el caso improbable de administración involuntaria a organismos no diana, habría escasas probabilidades de una propagación posterior, ya que varios estudios han demostrado que el VVAM no es virulento en animales de experimentación inmunocompetentes e inmunodeficientes ni en cultivos de células humanas primarias.

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

No procede.

7. *Probabilidad de intercambio genético in vivo*

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

Hay un potencial mínimo de transmisión genética a otras especies según la liberación propuesta del OMG. El OMG se liberará en una sala de exploración del hospital y es improbable que entre en contacto con otras especies animales. Además, al igual que el virus VVAM parental, TG4010 permanece localizado en el citoplasma celular hasta la lisis de la célula infectada. Es poco replicativo (la replicación fracasa en una fase tardía del ciclo vital del virus; tras la replicación del ADN, incluida la secuencia de codificación del transgén, la morfogénesis del virión se interrumpe), no integrativo (localización citoplásmica) y no propagativo en células de mamífero (no es capaz de generar partículas infecciosas). No es posible el intercambio genético con otros poxvirus humanos, ya que estos virus no son endémicos en la especie humana. En animales sensibles a la infección por el virus (incluso no permisivos para la propagación), las oportunidades de recombinación genética con poxvirus animales serían escasas, ya que el nivel de replicación que experimenta el ADN vector in vivo es bajo y se limita a las células infectadas por el inóculo (no se generan partículas infecciosas).

(b) De otros organismos al OMG:

Véase el apartado 7 (a).

(c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

No se dispone de datos.

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

No se dispone de datos.

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

No procede.

H. INFORMACIÓN SOBRE EL SEGUIMIENTO

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El seguimiento de los efectos directos e indirectos del OMG en los pacientes se hará mediante las evaluaciones clínicas siguientes: exploración física, medición de las constantes vitales, notificación de acontecimientos adversos, evaluación de las reacciones en el lugar de inyección, hemograma completo, análisis bioquímicos, determinación de enzimas cardíacas, evaluaciones inmunológicas y evaluación de la seguridad / difusión virales en muestras obtenidas con hisopo.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No se ha demostrado diseminación viral en los seres humanos a los que se ha inyectado el OMG hasta el momento y no se ha observado diseminación significativa del OMG fuera del lugar de inyección en estudios en animales, lo que confirma el carácter no diseminativo del OMG, que aparentemente permanece localizado en el lugar de inyección.

Sin embargo, se obtendrán con hisopo y se analizarán algunas muestras del primer lugar de inyección del OMG, antes (control negativo) y 6 horas después de la primera inyección del OMG y en varios momentos posteriores, es decir, D8 y D15 del ciclo 1 y D22 (es decir, D1 del ciclo 2) después de la primera inyección.

Las muestras se obtendrán siempre de 30 pacientes tratados en la parte de fase IIb (para conseguir muestras de al menos 10 pacientes en tratamiento con TG4010). Las muestras se analizarán mediante RCP cuantitativa.

3. Métodos para la detección la transferencia de material genético donado desde el paciente a otros organismos

No procede, pues no se espera que TG4010 interaccione con organismos no diana debido a que su gama de huéspedes es muy limitada, al tipo de liberación propuesta y a la naturaleza transitoria prevista de su expresión génica

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede: el OMG se administrará a los pacientes mediante inyecciones SC en habitaciones convencionales del hospital o la clínica.

5. Duración del seguimiento

Según el protocolo, se realizará una visita de seguimiento de la seguridad al menos 28 días después de la última administración del OMG.

6. Frecuencia de seguimiento

Las visitas de seguimiento, en las que se evaluará la seguridad, están previstas todas las semanas durante 4 semanas, luego cada 4 semanas durante 20 semanas y posteriormente cada 12 semanas hasta el final del seguimiento.

I. INFORMACIÓN SOBRE EL TRATAMIENTO POST-LIBERACIÓN Y EL TRATAMIENTO DE RESIDUOS

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

El lugar donde vaya a prepararse el producto para la inyección se descontaminará antes y después de la manipulación con una solución basada en un desinfectante convencional.

Después del alta del paciente a su domicilio, la habitación (superficies y suelo) y el baño del hospital o la clínica se limpiarán de la forma habitual con una solución basada en un desinfectante activo.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El lugar donde vaya a prepararse el producto para la inyección se descontaminará antes y después de la manipulación con una solución basada en un desinfectante convencional.

Después del alta del paciente a su domicilio, la habitación (superficies y suelo) y el baño del hospital o la clínica se limpiarán de la forma habitual con una solución basada en un desinfectante activo.

3. (a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Teniendo en cuenta:

- la dosis administrada por paciente, es decir, 10^8 ufp por inyección,*
- el número total de pacientes que está previsto tratar con TG4010 a lo largo del estudio de fase IIb/III, es decir, 1018 pacientes,*
- el número medio de inyecciones de TG4010 por paciente, es decir, 15,*

la cantidad máxima del OMG que se liberará en todos los países participantes en el estudio propuesto es de $1,5 \times 10^{12}$ ufp.

3. (b) Tratamiento de los residuos

Véase el apartado I.2.

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 advertirá al personal que intervenga en la manipulación de TG4010 que actúe siguiendo las recomendaciones que figuran más adelante si se produce un incidente durante el uso de TG4010.

- **Diseminación accidental:**

La zona contaminada deberá limpiarse con un desinfectante convencional que sea activo contra TG4010 (por ejemplo, lejía al 0,5% Cl; es decir, 5 g/l de cloro activo u otro desinfectante activo). Se mantendrá en contacto durante 30 minutos como mínimo.

- **Contaminación de la piel:**

La piel debe lavarse inmediatamente muy bien con agua y desinfectarse localmente con una solución de yodo al 4%.

- **Punción con la aguja:**

Lave la piel inmediatamente con abundante agua corriente. A continuación, trate la zona del modo siguiente:

- *Lave la zona con un jabón suave durante 5 minutos tras retirar la ropa contaminada, que deberá tratarse como material contaminado. Aclare con agua abundante. Seguidamente trate la zona con un desinfectante (por ejemplo, lejía al 0,45% Cl, es decir, 4,5 g/l de cloro activo) durante 5 minutos como mínimo. Aclare con agua abundante.*

o bien:

- *Lave la zona con una solución de yodo al 4% durante 5 minutos. Aclare con agua abundante. A continuación trate la zona con una solución de yodo al 10% durante 5 minutos. Aclare con agua abundante.*

Además, cubra de lesión con un vendaje seco oclusivo, que deberá eliminarse debidamente cuando se retire. La persona afectada deberá ser atendida por un médico y someterse a un seguimiento estrecho durante al menos 2 semanas.

- **Contaminación ocular:**

Lave inmediatamente durante 15 minutos el ojo o los ojos afectados con solución salina fisiológica, de forma que el agua fluya lateralmente en el ojo afectado. Si solo hay un ojo afectado, evite contaminar el otro (el ojo afectado debe estar por debajo del otro durante el lavado). Mantenga los párpados abiertos y mueva el ojo en todas las direcciones. Si es posible, instile una gota de una solución de trifluridina al 1%. La persona afectada debería someterse a una exploración oftalmológica lo antes posible.

- **Ingestión:**

No induzca el vómito y consulte a un médico de inmediato. Deberá hacerse un seguimiento estrecho de la persona afectada durante al menos 2 semanas.

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

Véase el apartado J.1.

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

No procede.

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

Se hará un seguimiento a los pacientes para detectar la aparición de acontecimientos adversos y acontecimientos adversos graves según lo estipulado en el protocolo del ensayo clínico. Todos los acontecimientos adversos graves serán registrados y evaluados por el personal del hospital y el promotor del estudio, y se notificarán a las autoridades sanitarias cuando sea pertinente.

La probabilidad de propagación es muy baja dadas las características del vector VVAM. Como ya se ha mencionado, el vector VVAM es poco replicativo y no propagativo. Por tanto, no se espera su propagación. Además, se necesitaría un poxvirus complementario competente para la propagación para permitir la diseminación del vector. Este fenómeno es improbable, dado que actualmente no hay ningún poxvirus no mutado que sea endémico en la población humana. Por otra parte, es improbable que se produzcan varias mutaciones independientes, incluidas restauraciones de las regiones eliminadas del genoma, para que este genoma pueda recuperar la estructura del virus parental: el virus variólico. Este fenómeno no se ha observado nunca durante la vacunación antivariólica en el ser humano, y es difícil de imaginar un mecanismo capaz de causar y seleccionar un acontecimiento de tal magnitud. Asimismo, los estudios han demostrado que se precisa la reparación de varios genes para restaurar plenamente la capacidad del VVAM para replicarse de forma eficiente en las células humanas. Estos datos concuerdan con la incapacidad para detectar revertientes espontáneos y confirman la seguridad del VVAM como vector.

Además, no se ha notificado ningún caso de propagación viral durante la experiencia clínica previa con TG4010 y con otros vectores VVAM recombinantes.