

**MVA.HIVconsv
B/ES/15/12**

**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**

08/10/15

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/15/12
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	26/10/2015
d) Título del proyecto:	ESTUDIO ABIERTO DE FASE I PARA EVALUAR LA SEGURIDAD Y EFICACIA DE LAS VACUNAS HIVconsv ADMINISTRADAS EN COMBINACIÓN CON ROMIDEPSINA EN EL CONTROL VIRAL TRAS LA INTERRUPCIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL EN INDIVIDUOS VIH-POSITIVOS TRATADOS PRECOZMENTE.
e) Período propuesto para la liberación:	Febrero 2016 – Septiembre 2016 (fecha de última administración de OMG)

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Promotor del ensayo: IrsiCaixa AIDS Research Institute Hospital Universitari Germans Trias i Pujol Carretera de Canyet s/n 08916 Badalona (Barcelona)
-------------------------------------	---

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input checked="" 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)	El organismo modificado genéticamente (OMG) a utilizar en el ensayo es el MVA.HIVconsv. El vector de la viruela vacunoide de Ankara modificado (MVA) es una virus de la viruela vacunoide	

(vaccinia) vivo recombinante, atenuado por pases seriados en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo (o CEF, del inglés, chick embryo fibroblasts) y que contiene seis deleciones genómicas grandes respecto el virus parental. En el MVA se ha insertado el transgén que codifica para el inserto HIVconsv (igual que en el OMG ChAdV63.HIVconsv B/ES/12/09) con el objetivo de inducir una respuesta inmunológica VIH-específica de células T. El tamaño del MVA.HIVconsv tras la inserción se estima en aproximadamente 180 kpb.

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A: MVA es un virus genéticamente estable incapaz de integrar su DNA en el genoma del huésped y que permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula.

El OMG MVA.HIVconsv se genera en fibroblastos de embrión de pollo (CEFs) y se purifica por gradiente de densidad de sucrosa. El vector de la vacuna MVA es un virus vivo recombinante atenuado mediante pases seriados en CEF que contiene seis grandes deleciones genómicas en relación con el virus parental. El tamaño del genoma MVA tras la inserción de la secuencia codificante HIVconsv se estima ser aproximadamente 180 kpb. Las modificaciones genéticas del OMG MVA.HIVconsv son estables y se mantienen tras pases sucesivos en CEFs.

La producción del virus recombinante MVA.HIVconsv se realiza por la empresa alemana IDT y se basa en un sistema de 'seed virus', en el que se prepara un 'master seed virus' (MSV) y un virus de trabajo (WSV). Toda la preparación, la verificación de la estabilidad genética y el almacenamiento del MSV y WSV se realiza en IDT bajo condiciones cGMP y según la normativa de la UE.

La estabilidad genética se verifica en distintos pasos del proceso de producción, mediante análisis de integridad del vector y del inserto (patrón de restricción y secuenciación del genoma completo del virus), pureza, potencia biológica y seguridad (análisis de ausencia de virus parental), tanto del inóculo inicial fabricado por el Dr. Tomas Hanke, del MSV, del WSV así como del producto final. La estabilidad estándar (Shelf life) asignada a las vacunas derivadas de MVA producidas por IDT bajo condiciones cGMP es de 24 meses cuando se almacenan a -70C y se repiten las pruebas de estabilidad MVA.HIVconsv de forma anual.

Existe una gran experiencia con la estabilidad de poxvirus recombinantes y MVA recombinantes en particular, no sólo por parte de IDT. Hasta el momento actual, se ha construido en la Universidad de Oxford siete MVA recombinantes que han entrado en ensayos clínicos, dos de ellos transgenes derivados de VIH-1 (HIVA y HIVconsv) Los datos de estabilidad de dos de los productos estrechamente relacionados (MVA85A y MVA.HIVA), que habían pasado por el mismo proceso de fabricación, mostraron estabilidad durante un periodo de 6 años. Los transgenes de HIVA y 85A son 1.584 pb y 1107 pb de tamaño respectivamente, y por lo tanto similar al tamaño del gen HIVconsv.

Dentro de los test de identificación y validación para confirmar la integridad global del genoma del MVA.HIVconsv (por lo tanto de su estabilidad genética) incluye:

a) Identidad por PCR, utilizando los cebadores HIVconF y HIVconR, que producen un producto de 938 pb y confirma la presencia específica del producto HIVconsv

b) Pureza por PCR: ausencia de producto de PCR específico de la cepa MVA wildtype. La ausencia de la cepa salvaje de MVA (no recombinante) se comprueba por reacción de PCR utilizando los cebadores TKF y TKB, que producen una banda de 228 pb TK-específica del lugar de inserción TK. DNA genómica MVA/rMVA sirve como template y el plásmido pVT2 como control positivo en la PCR. Un resultado negativo indica menos de 1 MVA no recombinante por cada 20.000 MVA.HIVconsv.

c) Identidad por secuenciación del ORF entero del HIVconsv idéntico a la secuencia master (2536bp)

La monitorización de la estabilidad de los lotes clínicos, tal como se indica en el IMPD, se realiza de forma periódica usando ensayos de infectividad en CEFs. El título del virus se expresa en unidades formadoras de placa por mililitro (pfu/ml) Se realizan pruebas para testar la estabilidad genética en diferentes puntos de la producción del lote final. La amplificación por PCR y su posterior secuenciación sirve para confirmar la presencia del inserto que codifica para el antígeno HIVconsv así como para descartar la producción de mutaciones o deleciones.

Los tests de estabilidad (titulación) se complementan con ensayos de potencia de inmunogenicidad in vivo.

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

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

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación: Reino Unido, Kenia y España	
- Número de la notificación:	
En los estudios HIV-CORE001, HIV-CORE002, PEACHI-01 (Reino Unido), HIV-CORE004 (Kenia) el mismo OMG ha sido notificado como de "uso contenido".	
En España, número de notificación B/ES/12/10.	

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

No hay razones científicas para suponer que el empleo del HIVconsv como inserto en este vector viral modifique las características de distribución, shedding o capacidad replicativa con respecto a otros insertos utilizados en el mismo MVA. Los MVA han sido utilizados ampliamente en ensayos clínicos, tanto en administración directa como en estrategias de terapia celular. No se espera ninguna supervivencia del MVA dado que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación. La posibilidad de transferencia génica a otras especies es mínima en las condiciones de liberación propuestas. El MVA.HIVconsv es un organismo atenuado para la replicación, no propagativo por lo que no se espera ninguna afectación a otros humanos, flora ni fauna cercana o lejana a la zona de liberación.

La vacuna viral modificada genéticamente MVA.HIVconsv no es capaz de sobrevivir, establecerse, diseminarse ni de desplazar a otros organismos, y no es patogénica a animales ni plantas. La proteína quimérica -HIVconsv –el inserto- está constituida por 14 fragmentos del genoma del VIH-1 no implicados en la patogenicidad del virus; además no contiene proteínas nativas enteras por lo que no es funcionalmente activa, no es peligrosa y no tiene efectos dañinos para otros organismos.

Con todo lo expuesto la probabilidad de que MVA.HIVconsv se haga persistente y sea invasivo en hábitats naturales es muy baja. Nunca se ha documentado la reversión espontánea del MVA al virus de la viruela vacunoide (VV) competente para la replicación. Las consecuencias de este riesgo ambiental se consideran bajas en el contexto de las medidas propuestas para el uso contenido de las vacunas.

La primera liberación del OMG MVA.HIVconsv en nuestro país fue bajo el expediente B/ES/12/10. Durante el período de liberación, no se recogió ninguna incidencia o accidente. Tras la evaluación por la Comisión Nacional de Bioseguridad se consideró que en el estado actual de conocimiento y en las condiciones de uso previstas, el ensayo BCN01 no presentaba ningún riesgo para la salud humana y el medio ambiente. Aun así, se consideró necesario llevar a cabo estudios de biodistribución del OMG para asegurar la no diseminación en el medio ambiente a través de los fluidos corporales de los pacientes que participaban en el ensayo. El

grupo investigador propuso realizar detección mediante PCR del inserto HIVconsv en muestras de orina recogidas a las 24h y 7 días post vacunación con el OMG MVA.HIVconsv. En el momento actual, se están llevando a cabo dichas determinaciones, cuyos resultados finales se remitirán a la Comisión Nacional de Bioseguridad junto con la presente notificación (Fecha estimada de reporte Noviembre de 2015)

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: *MVA, virus de de la viruela vacunoide (vaccinia) Ankara modificado*

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

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

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): *Poxviridae/Chordopoxviridae*

ii) Género: *Orthopoxvirus*

iii) Especie: *Virus de la viruela vacunoide*

iv) Subespecie: *no aplica*

v) Cepa: *Virus de la viruela vacunoide de Ankara modificado*

vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: MVA

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él: Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos: i) Sí <input type="checkbox"/> En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra: Atlántico <input type="checkbox"/> Mediterráneo <input type="checkbox"/> Boreal <input type="checkbox"/> Alpino <input type="checkbox"/> Continental <input type="checkbox"/> Macaronésico <input type="checkbox"/> ii) No <input checked="" 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):	
<p>El MVA es un virus de la viruela vacunoide (virus vaccinia) vivo recombinante, atenuado con limitada habilidad para replicar en células humanas. No se encuentra en ecosistemas naturales. Se replica bien en células de ave (fibroblastos de embrión de pollo o CEF) y de cría de hámster, pero mal en la mayoría de las células de mamíferos (Mayr et al, 1978; Drexler et al, 1998) por lo que es incapaz de propagarse en células humanas normales.</p>	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	
No procede.	

5.a) Técnicas de detección

La identidad del MVA se puede confirmar por PCR. Está basada en la ausencia de genes deletados del virus vaccinia wildtype, características de la cepa MVA.

La infectividad del virus MVA se mide haciendo el promedio de 3 titulaciones independientes en fibroblastos de embrión de pollo. El título del virus se expresa en unidades formadoras de placa por mililitro (pfu/ml).

5.b) Técnicas de identificación

Las mismas que en apartado 5a.

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:
Los MVA están clasificados como categoría I por su limitada patogenicidad.

7. ¿Es el organismo receptor, 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		
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 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		
Los MVA están clasificados como categoría I por su limitada patogenicidad.		
La respuesta inmune generada a partir de la infección por el virus vaccinia parental protege a la persona contra la viruela, por este motivo se utilizó como vacuna. La infección por el virus vaccinia es muy leve y normalmente asintomática en individuos sanos, pero puede causar una leve erupción y fiebre. Sin embargo, se producen a veces algunas complicaciones y efectos secundarios, y la probabilidad de que esto ocurra es significativamente mayor en las personas inmunocomprometidas. El MVA sin embargo, que fue utilizado como una vacuna contra la viruela en la década de 1970 hacia el final de la campaña de erradicación en 120 000 personas no produjo ningún evento adverso grave.		
Con la erradicación mundial de la viruela, la vacunación de rutina con el virus vaccinia ya no se realiza. Sin embargo, después del ataque de bioterrorismo con ántrax en octubre de 2001, el gobierno de Estados Unidos ha hecho todo lo posible para mejorar la preparación para la liberación intencional o accidental de virus vaccinia. Inicialmente, este comenzó con los intentos de vacunar a un gran número de posibles emergencias y trabajadores de la salud. También ha habido fondos para el desarrollo y la producción de una nueva vacuna contra la viruela, así como el desarrollo de terapias antipoxvirus. Algunos investigadores de laboratorio, trabajadores de la salud, primeros auxilios, y personal militar están siendo todavía vacunados. La vacuna con el virus vaccinia está solamente disponible en los Estados Unidos a través del		

CDC.

MVA no presenta ningún riesgo de integración o activación de provirus latentes, puesto que el vector se encuentra exclusivamente en el citoplasma y es altamente improbable que se produzca una diseminación significativa de las partículas infecciosas fuera del punto de inyección.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

no aplicable, no se genera en ecosistemas naturales. Se replica bien en células de ave (fibroblastos de embrión de pollo o CEF) y de cría de hámster, pero mal en la mayoría de las células de mamíferos (Mayr et al, 1978; Drexler et al, 1998) por lo que es incapaz de propagarse en células humanas normales

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: no aplica.

c) Modo de reproducción

no aplica.

Sexual

Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

no aplica.

9. Capacidad de supervivencia

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

(i) endosporas

(ii) quistes

(iii) esclerocios

(iv) esporas asexuales(hongos)

(v) esporas sexuales (hongos)

(vi) huevos

(vii) pupas

(viii) larvas	<input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifíquense)	irrelevante

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

No se espera ninguna supervivencia del MVA dado que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación.

La bioactividad del MVA decae a temperatura ambiente de forma logarítmica. Es susceptible a diferentes agentes químicos como hipoclorito sódico al 1% y glutaraldehído al 2%, utilizados como desinfectantes, y se ha demostrado sensibilidad al calor como método de inactivación física. Así, una eliminación completamente eficaz se consigue mediante autoclavado a 121 °C durante 15 minutos.

10.a) Vías de diseminación

El MVA.HIVconsv, al igual que el MVA parental y otros OMG vectorizados en MVA, permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula. Según datos de estudios clínicos, no se ha observado diseminación del vector, por lo que se supone que se localiza en el punto de inyección.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Irrelevante

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)

El mismo OMG con las mismas características y sin ninguna modificación genética adicional expediente B/ES/12/10

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

El vector de la viruela vacunoide de Ankara modificado (MVA) es una virus vaccinia vivo recombinante, atenuado por pases seriados en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo (o CEF, del inglés, chick embryo fibroblasts) y que contiene seis deleciones genómicas grandes respecto el virus parental (15% del genoma parental), incluidos los genes de receptores de citoquinas. Entre los genes mutados se incluye una de las proteínas de membrana mayoritarias (ORF F5L), y entre las regiones delecionadas están genes clásicos de evasión inmune poxviral, genes de virulencia y dos de cinco genes del huésped. (Antoine et al, 1998, Meisinger-Henschel et al. 2007, 2010 y Hanke T. et al, 2004) haciendo el MVA seguro para una aplicación clínica dada su limitada habilidad para replicar en células humanas.

El transgén que codifica para el inserto HIVconsV se ha insertado en el locus de la quinasa timidínica del genoma del MVA bajo el control del promotor p7.5 con el objetivo de inducir una respuesta inmunológica VIH-específica de células T.

Con todas estas modificaciones se pretende que en aquellas células que se infecten por MVA.HIVconsV puedan expresar el inmunógeno HIVconsV para la activación de respuestas inmunitarias frente al virus VIH-1.

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

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

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: pSC11.HIVconsv	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Escherichia coli	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense): pSC11.HIVconsv aloja también el gen de la b-galactosidasa como marcador, generando placas azules en la tinción de una monocapa de células infectadas	
En el constructo final MVA.HIVconsv se incluye un epítipo para el anticuerpo Pk localizado en el extremo C-terminal del inmunógeno que puede detectarse con inmunofluorescencia.	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	

e) Fragmentos constituyentes del vector

MVA.HIVconsv es un vector viral basado en el MVA atenuado recombinante que contiene secuencias de ADN que codifican para el gen HIVconsv insertadas por recombinación homóloga de DNA genómica de MVA y el plásmido de transferencia pSC11.HIVconsv en células permisivas CEF. pSC11.HIVconsv es un plásmido de co-expresión que dirige la inserción de un gen de interés, junto con el gen de la b-galactosidasa de Escherichia coli (3-galactosidasa en el locus de la timidina kinasa (TK) del genoma del virus vaccinia. Contiene la secuencia del inserto HIVconsv, el gen de la B-galactosidasa y el promotor 7.5.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense) **Recombinación homóloga**

Brevemente, las CEFs se infectan con MVA parental a una MOI 1 y se transfectan con Superfectin (Qiagen) 3 ug de pSC11.HIVconsv que aloja también el gen de la b-galactosidasa como marcador. Dos días después, el virus total se recoge y se utiliza para reinfectar células CEF. Los rMVAs fueron sometidos a cinco rondas de purificación en placa, tras lo cual se obtiene el stock de virus maestro, purificado sobre un colchón de sacarosa al 36%, titulado y almacenado a -80°C hasta su uso

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

- i) transformación
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

HIVconsv:

HIVconsv es un inmunógeno de células T producido por las células como una proteína quimérica en la que están integrados los dominios altamente conservados en los proteomas de los subtipos A, B, C y D del VIH-1. Se intentó que el tamaño del gen quimérico que la produce fuera de aproximadamente 2.5kbp para adecuarlo a los vectores de vacuna más usados y asegurar una expresión significativa. Codifica 14 de las regiones más conservadas del genoma del VIH-1, cada una entre 27 y 128 aminácidos. (Létoruneau et al, 2007) más un 15avo fragmento que incluye un epítipo reconocido por células T CD8+ de rhesus macacos (Mamu-A*01, Allen et al, 2000) y ratón (H-2Ddy Ld, Takahashi et al, 1998) respectivamente. También se añadió el epítipo del anticuerpos monoclonal mAb PK en al extremo C-terminal del inmunógeno (Hanke et al, 1992) para facilitar la detección de la expresión de la proteína.

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

Las secuencias donantes primarias del transgen HIVconsv son 14 fragmentos del genoma del VIH-1 altamente conservados entre los subtipos A, B, C y D.

```

1  MEEKAFSPEVPMFTALSEGATPQDLNTMLNTVGGHQAMQMLKDTINE
   EAAEWDR
2  IYKRWIIIGLNKIVRMYSPVSILDIRQGPKEPFRDYVDRF
3  ARNCRAPRKKGCWKCGKEGHQMKDCTERQANFLGKIWPS
4  RWKPKMIGGIGGFIVRQYDQILIEICGHKAIGTVLVGPTPVNIIGRNLITQI
   GCTLNFPISPIETVPVKLKPMDGPKVKQWPLTEEKIKALVEICTEMEKEG
   KISKIGPENPYNTPVFAIKKDKSTKW
5  RKLVDFRELNKRTQDFWEVQLGIPHPAGLKKKSVTVLDVGDAYSFVPL
   DEGFRKYTAFTIPSINNETPGIRYQYNVLPQGWKGSPIAFQSSMTKILEPF
   RAQNPEIVYQYMDDLTVGSDLEIGQHR
6  MENRWQVMIVWQVDRMRIRTWKSLVKHH
7  LTEEALELAENREILKDPVHGVYDPSKDLIAEIQ
8  YWQATWIPEWVFNTPPLVKLWYQLEK
9  NVTENFMWKNMVDQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTP
10 WVPAAHKIGGNEQVDKLVSQGIRKVLFLDGIDKAO
11 AKEIVASCDKQKLGGEAMHGQVDCSPGIWQLDCTHLEGKIVLVAHVAS
   GYIEAEVIPAETGQETAYFLLKLA
12 MNKELKKIIGQVRDQAEHLKTAVQMAVFIHNFKRKGGIGGYSAGERI
13 WKGPAKLLWKGEGAVIQDNDIKVPRRKAKIIRDYGGKQMGADCV
14 FLGAAGSTMGAASMTLTVQARQLLSGIVQQNLLRAIEAQHLLQLTV
   WGIKQ
15 ACTPYDINQMLRGPGRFVFTIPNPLGLD

```

El último segmento incluye un epítipo Mamu-A*01 de macaco, un epítipo H-2Ddy Ld murino y un epítipo para detección por anticuerpos mAb PK.

La región codificante de la proteína HIVconsv se sintetizó químicamente por GeneArt (Alemania)

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

La función del inmunógeno HIVconsv es la inducción de respuestas inmunitaria de células T citotóxicas VIH-1 específicas dirigidas contra las regiones incluidas en el inserto de MVA.HIVconsv, que pueden ayudar a controlar la infección por VIH-1 de forma eficaz. El último segmento incluye un epítipo Mamu-A*01 de macaco, un epítipo H-2Ddy Ld murino y un epítipo para detección por anticuerpos mAb PK. Su función es la de detección de la expresión del inmunógeno en los ensayos preclínicos en murinos y/o macacos.

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

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense):

integrado en el genoma del MVA en el locus de la quinasa timidínica del genoma del MVA bajo el control del promotor 7.5.

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)

La siguiente información está relacionada con el organismo de procedencia del transgen insertado (HIVconsv) , el virus de la inmunodeficiencia humana o VIH-1

1. Indíquese si es:

Viroide

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense):	
<p>HIVconsv es una proteína quimérica sintetizada químicamente por la unión de 14 fragmentos del genoma del VIH-1 (virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1) de entre 27 y 128 aminoácidos cada uno.</p>	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas): Retroviridae
iii) Género: Lentivirus
iv) Especie: Human
v) Subespecie: constituida por fragmentos de los subtipos A, B, C y D
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: VIH-1, virus de la inmunodeficiencia humana

3. ¿Es el organismo 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, especifíquese		
(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) ¿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:	
<p>El VIH-1 infecta y destruye directamente las células que son críticas para una respuesta inmunitaria efectiva, explicando las manifestaciones clínicas derivadas de la progresiva inmunodepresión. El VIH-1 es un virus ARN, cuyas principales células diana son los linfocitos CD4+ T-helper, células CD4 de los macrófagos y algunas poblaciones de células dendríticas. Tras la entrada, se inicia en el citoplasma celular la retrotranscripción del genoma viral ARN, cuyo producto de doble cadena ADN se transporta al núcleo celular donde se integra en el ADN cromosómico de la célula infectada, un paso necesario para la síntesis eficiente de ARN viral y consecuente producción de nuevas partículas virales infecciosas. Los <i>lentivirus</i> como el VIH-1, son únicos entre los retrovirus, en generar productos de preintegración capaces de transportarse a la interfase del núcleo de células en reposo secuestradas en fase G1 del ciclo celular.</p> <p>Las infecciones in vivo por VIH-1 se limitan a humanos y chimpancés y su transmisión es por contacto con sangre, relaciones sexuales o por transmisión vertical de madre-hijo durante el embarazo y el parto. El curso de la enfermedad en humanos varía enormemente entre las personas infectadas. El tiempo entre la infección y el desarrollo del SIDA –definido por la reducción de los niveles de CD4 por debajo de 200cels/ul o la aparición de enfermedades oportunistas o cáncer definitivas de SIDA, puede ir desde los 6 meses hasta más de 25 años.</p> <p>Los <i>lentivirus</i> se restringen típicamente en su rango de huésped, aunque infecciones cruzadas entre especies de forma natural –o experimental- han sido documentadas. Sin embargo, en los chimpancés -el único primate no humano capaz de infectarse con el VIH-1- no presenta inmunodeficiencia ni enfermedad a largo plazo. Durante la primoinfección por VIH-1 puede aislarse durante algunas semanas el virus circulando de forma intermitente, pero es luego resuelta de forma asintomática en la mayoría de los casos.</p> <p>Los fragmentos o secuencias incluidos en el inmunogéno HIVconsv no participan en las propiedades patógenas del virus.</p>	

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 checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo , especifíquese: El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1) está clasificado como nivel de bioseguridad de clase 3*D. El HIVconsv sin embargo se produce por síntesis química, no por replicación del VIH-1, y no es patógeno, por lo que no tiene clasificación sobre seguridad.</p>	

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

MVA.HIVconsv

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: El MVA.HIVconsv, al igual que el MVA, es un virus de la viruela vacunoide (virus vaccinia) vivo recombinante, atenuado con limitada habilidad para replicar en células humanas.</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 type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Lo mismo que arriba.</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 type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: El MVA tiene extremadamente limitada su capacidad de diseminación, puesto que permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula. Según datos de estudios clínicos de otros estudios con OMG vectorizados por MVA, no se ha observado diseminación del vector, por lo que se supone que se localiza en el punto de inyección.</p>

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: El MVA fue utilizado como una vacuna contra la viruela en la década de 1970 hacia el final de la campaña de erradicación en 120 000 personas no produjo ningún evento adverso grave.

MVA.HIVconsv mantiene las mismas características de patogenicidad.

Los efectos se limitan a los derivados de la infección inicial de células receptoras (local).

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

MVA es un virus genéticamente estable incapaz de integrar su DNA en el genoma del huésped y que permanece localizado en el citoplasma celular hasta la destrucción de la célula.

El OMG MVA.HIVconsv se genera en fibroblastos de embrión de pollo (CEFs) y se purifica por gradiente de densidad de sucrosa. El vector de la vacuna MVA es un virus vivo recombinante atenuado mediante pases seriados en CEF que contiene seis grandes deleciones genómicas en relación con el virus parental. El tamaño del genoma MVA tras la inserción de la secuencia codificante HIVconsv se estima ser aproximadamente 180 kpb. Las modificaciones genéticas del OMG MVA.HIVconsv son estables y se mantienen tras pases sucesivos en CEFs.

La producción del virus recombinante MVA.HIVconsv se realiza por la empresa alemana IDT y se basa en un sistema de 'seed virus', en el que se prepara un 'master seed virus' (MSV) y un virus de trabajo (WSV). Toda la preparación, la verificación de la estabilidad genética y el almacenamiento del MSV y WSV se realiza en IDT bajo condiciones cGMP y según la normativa de la UE.

La estabilidad genética se verifica en distintos pasos del proceso de producción, mediante análisis de integridad del vector y del inserto (patrón de restricción y secuenciación del genoma completo del virus), pureza, potencia biológica y seguridad (análisis de ausencia de virus parental), tanto del inóculo inicial fabricado por el Dr. Tomas Hanke, del MSV, del WSV así como del producto final. La estabilidad estándar (Shelf life) asignada a las vacunas derivadas de MVA producidas por IDT bajo condiciones cGMP es de 24 meses cuando se almacenan a -70C y se repiten las pruebas de estabilidad MVA.HIVconsv de forma anual.

Existe una gran experiencia con la estabilidad de poxvirus recombinantes y MVA recombinantes en particular, no sólo por parte de IDT. Hasta el momento actual, se ha construido en la Universidad de Oxford siete MVA recombinantes que han entrado en ensayos clínicos, dos de ellos transgenes derivados de VIH-1 (HIVA y HIVconsv) Los datos de estabilidad de dos de los productos estrechamente relacionados (MVA85A y MVA.HIVA), que habían pasado por el mismo proceso de fabricación, mostraron estabilidad durante un periodo de 6 años. Los transgenes de

HIVA y 85A son 1.584 pb y 1107 pb de tamaño respectivamente, y por lo tanto similar al tamaño del gen HIVconsv.

Dentro de los test de identificación y validación para confirmar la integridad global del genoma del MVA.HIVconsv (por lo tanto de su estabilidad genética) incluye:

a) Identidad por PCR, utilizando los cebadores HIVconF y HIVconR, que producen un producto de 938 pb y confirma la presencia específica del producto HIVconsv

b) Pureza por PCR: ausencia de producto de PCR específico de la cepa MVA wildtype. La ausencia de la cepa salvaje de MVA (no recombinante) se comprueba por reacción de PCR utilizando los cebadores TKF y TKB, que producen una banda de 228 pb TK-específica del lugar de inserción TK. DNA genómica MVA/rMVA sirve como template y el plásmido pVT2 como control positivo en la PCR. Un resultado negativo indica menos de 1 MVA no recombinante por cada 20.000 MVA.HIVconsv.

c) Identidad por secuenciación del ORF entero del HIVconsv idéntico a la secuencia master (2536bp)

La monitorización de la estabilidad de los lotes clínicos, tal como se indica en el IMPD, se realiza de forma periódica usando ensayos de infectividad en CEFs. El título del virus se expresa en unidades formadoras de placa por mililitro (pfu/ml) Se realizan pruebas para testar la estabilidad genética en diferentes puntos de la producción del lote final. La amplificación por PCR y su posterior secuenciación sirve para confirmar la presencia del inserto que codifica para el antígeno HIVconsv así como para descartar la producción de mutaciones o deleciones.

Los tests de estabilidad (titulación) se complementan con ensayos de potencia de inmunogenicidad *in vivo*.

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
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 y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

Lo mismo que lo mencionado anteriormente para el MVA. La patogenicidad de MVA.HIVconsv no difiere de la de MVA.

Los MVA están clasificados como categoría I por su limitada patogenicidad.

La respuesta inmune generada a partir de la infección por el virus vaccinia parental protege a la persona contra la viruela, por este motivo se utilizó como vacuna. La infección por el virus vaccinia es muy leve y normalmente asintomática en individuos sanos, pero puede causar una leve erupción y fiebre. Sin embargo, se producen a veces algunas complicaciones y efectos secundarios, y la probabilidad de que esto ocurra es significativamente mayor en las personas inmunocomprometidas. El MVA sin embargo, que fue utilizado como una vacuna contra la viruela en la década de 1970 hacia el final de la campaña de erradicación en 120 000 personas no produjo ningún evento adverso grave.

Con la erradicación mundial de la viruela, la vacunación de rutina con el virus vaccinia ya no se realiza. Sin embargo, después del ataque de bioterrorismo con ántrax en octubre de 2001, el gobierno de Estados Unidos ha hecho todo lo posible para mejorar la preparación para la liberación intencional o accidental de virus vaccinia. Inicialmente, este comenzó con los intentos de vacunar a un gran número de posibles emergencias y trabajadores de la salud. También ha habido fondos para el desarrollo y la producción de una nueva vacuna contra la viruela, así como el desarrollo de terapias antipoxvirus. Algunos investigadores de laboratorio, trabajadores de la salud, primeros auxilios, y personal militar están siendo todavía vacunados. La vacuna con el virus vaccinia está solamente disponible en los Estados Unidos a través del CDC.

MVA no presenta ningún riesgo de integración o activación de provirus latentes, puesto que el vector se encuentra exclusivamente en el citoplasma y es altamente improbable que se produzca una diseminación significativa de las partículas infecciosas fuera del punto de inyección.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

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

No hay previstas técnicas de detección e identificación en el medio ambiente.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

La mayoría de los métodos que se usan en la caracterización final del MVA.HIVconsv durante el desarrollo, procesos de control durante la producción y tests de liberación, son métodos estandarizados, previamente usados y validados (de forma apropiada para el uso del material en fases clínicas tempranas) para diferentes MVAs.

La identidad del MVA se puede confirmar por PCR. Está basada en la ausencia de genes deleccionados del virus vaccinia wildtype, características de la cepa MVA. La infectividad del virus MVA se mide haciendo el promedio de 3 titulaciones independientes en fibroblastos de embrión de pollo. El título del virus se expresa en unidades formadoras de placa por mililitro (pfu/ml).

Tras la recombinación con el plásmido de transferencia del inserto HIVconsv, el DNA se extrae de la muestra de virus. Mediante PCR, se amplifican secuencias concretas de DNA. Los cebadores de PCR están diseñados de tal forma que son únicos para el transgen HIVconsv. La amplificación del fragmento de DNA del tamaño adecuado confirma la identidad del inserto. La inmunogenicidad del MVA.HIVconsv se demuestra en ratones Balb/c y macacos reshus.

F. Información sobre la liberación

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

El OMG MVA.HIVconsv se ha desarrollado como un candidato a vacuna terapéutica para el VIH-1. Su liberación es necesaria para la realización del segundo ensayo clínica en fase I en nuestro país con el candidato a vacuna MVA.HIVconsv administrado en combinación con el medicamento romidepsina en pacientes con infección reciente por el VIH-1. Su primer uso en humanos (fase I en individuos sanos) se llevó a cabo en Gran Bretaña, en los ensayos HIV-CORE001 y HIV-CORE002, y en la actualidad se está llevando a cabo en Kenya un ensayo fase I/IIa, también en individuos sanos.

El presente ensayo BCN02-Romi tiene como objetivo evaluar la seguridad y tolerabilidad, así como la reducción del reservorio viral, de una pauta de vacunación MVA.HIVconsv, seguida de 3 infusiones de romidepsina separadas una semana y una segunda vacunación de MVA.HIVconsv, en pacientes infectados por el VIH-1 con supresión virológica temprana que a los 6 meses del inicio de un esquema de tratamiento antirretroviral recibieron las vacunas ChAdV63.HIVconsv y MVA.HIVconsv administradas por vía intramuscular según dos esquemas diferentes de vacunación: 0-8 semanas o 0-24 semanas (dentro del marco del ensayo ChAd-MVA.HIVconsv-BCN01).

No se espera ningún beneficio ambiental potencial significativo de la liberación del OMG en el ensayo clínico.

Los detalles del diseño del ensayo y de sus objetivos se encuentran en el protocolo adjunto.

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 type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese: El MVA no existe de forma natural en nuestro ecosistema</p>	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): A pesar de que en el ensayo participan dos centros reclutadores, las vacunaciones con MVA.HIVconsv se realizarán en la Unidad Polivalente de Investigación Clínica (UPIC), localizada en la planta 2 del edificio maternal del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, situado en la Ctra. Canyet, s/n, 08916 Badalona.</p>
<p>b) Área del lugar (m²):</p> <p>(i) lugar real de la liberación (m²): habitación de la UPIC del centro (Unidad polivalente de investigación clínica) 15m²</p> <p>(ii) área de liberación más amplia (m²): la misma y nunca superior a 15m²</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No aplica, la afectación a estas áreas no es posible.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No aplica, la afectación de la fauna y flora no es posible</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Se incluirán un máximo de 24 pacientes que cumplan los criterios de inclusión y exclusión, que recibirán MVA.HIVconsv en el momento basal y a la semana 9. Todos los pacientes ya recibieron el mismo OMG en el ensayo previo BCN01 (notificación B/ES/12/10).</p> <p>En total se calcula que se administraran un máximo de 96 viales (pacientes extra por pérdidas) con una dosis única de 2×10^8 pfu por vacunación.</p>
<p>b) Duración de la operación: Cada vacunación dura aproximadamente unos minutos. El periodo de reclutamiento (y de administración de la dosis de MVA.HIVconsv) de los 24 participantes se calcula se realizará a lo</p>

largo de 6 meses. El seguimiento total del estudio es de 14 meses.

(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 únicamente para uso clínico.

El personal implicado en la preparación del producto celular trabaja según las condiciones especificadas en la normas de Buenas Practicas Clínicas y de Buenas Prácticas de Fabricación. El laboratorio de fabricación (IDT Biologika GmbH) ubicado en Alemania, prepara y envasa el producto en viales sellados herméticamente y etiquetados en forma adecuada. Los viales serán enviados desde Alemania mantenidos a -80°C y almacenados hasta su uso en el Servicio de Farmacia del Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona. La administración se realiza bajo responsabilidad del investigador, de acuerdo con un protocolo clínico y respetando las Normas de Buena Práctica Clínica.

El personal que administrará el producto celular utilizará 'precauciones universales' y técnicas estériles (guantes, mascarillas y batas desechables). El producto se preparará en condiciones asépticas, en cumplimiento adecuado a la preparación de inyectables. El área utilizada para la preparación para su inyección debe descontaminarse antes y después de la manipulación con lejía y alcohol de 70°.

El lugar de inoculación de la vacuna se cubrirá apropiadamente. El lugar de administración del producto (UPIC) se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1%, inmediatamente después de la administración. El material utilizado se considera residuo sanitario Grupo III y se gestionará como tal. Concretamente, los guantes, mascarilla y bata se desecharán en una bolsa roja y las agujas en contenedores amarillos específicos a tal efecto. El vial utilizado se colocará en una bolsa sellada y se conservará a -80°C para su destrucción, que se realizará de forma agrupada al final del ensayo.

Todas las transferencias de la preparación deben realizarse utilizando un contenedor cerrado. Más aún, los empleados seguirán la política hospitalaria o clínica estándar recomendada para la manipulación de vacunas con virus vivos.

En caso de contaminación accidental, cada superficie contaminada deberá tratarse de acuerdo con los procedimientos hospitalarios convencionales para productos infectados. Todo el personal implicado en la manipulación del producto debe ser informado de que en caso de contaminación cutánea hay que lavar inmediatamente la piel profusamente con agua y desinfectar localmente con yodo al 4% y, en caso de contaminación ocular, se recomienda lavar y enjuagar únicamente con agua. Se debe realizar asimismo una evaluación por el oftalmólogo tan pronto como sea posible. No está proyectado ningún análisis biológico específico para el personal que maneje el producto.

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

No aplica. Todas las vacunaciones se realizaron en la UPIC del Hospital Germans Trias i Pujol de Badalona.

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

La primera liberación del OMG MVA.HIVconsv en nuestro país fue bajo el expediente B/ES/12/10. Durante el período de liberación, no se recogió ninguna incidencia o accidente.

Tras la evaluación por la Comisión Nacional de Bioseguridad se consideró que en el estado actual de conocimiento y en las condiciones de uso previstas, el ensayo BCN01 no presentaba ningún riesgo para la salud humana y el medio ambiente. Aun así, se consideró necesario llevar a cabo estudios de biodistribución del OMG para asegurar la no diseminación en el medio ambiente a través de los fluidos corporales de los pacientes que participaban en el ensayo. El grupo investigador propuso realizar detección mediante PCR del inserto HIVconsv en muestras de orina recogidas a las 24h y 7 días post vacunación con el OMG MVA.HIVconsv. En el momento actual, se están llevando a cabo dichas determinaciones, cuyos resultados finales se remitirán a la Comisión Nacional de Bioseguridad junto con la presente notificación (previsto Noviembre)

En todos los ensayos promovidos desde GB en los que se ha liberado MVA.HIVconsv, fueron considerados de uso contenido por lo que no existen datos específicos para MVA.HIVconsv de diseminación en ecosistemas dado que no se solicitaron estudios de diseminación en el medio ambiente. Recaltar sin embargo, que siete rMVAs que se han desarrollado en la Universidad de Oxford han sido evaluados en ensayos clínicos, dos de ellos con transgenes derivados del VIH (HIVA y HIVconsv). Los estudios de biodistribución realizados en ratones y simios con MVA.HIVA -cuyo inserto y sistema de producción es equiparable a MVA.HIVconsv- no han demostrado detección del OMG fuera del lugar de inoculación.

En base a los datos de los ensayos clínicos HIV-CORE001, HIV-CORE002, HIV-CORE004 y ChAd-MVA.HIVconsv-BCN01, se prevé que los voluntarios vacunados con MVA.HIVconsv experimenten los siguientes acontecimientos adversos:

- Dolor en el lugar de inyección
- Sensibilidad en el lugar de inyección
- Enrojecimiento en el lugar de inyección
- Hinchazón en el lugar de inyección
- Prurito en el lugar de inyección

- Induración
- Mialgia
- Cefalea
- Fatiga
- Fiebre
- Malestar
- Náuseas
- Escalofríos
- Vómitos
- Síntomas gripales
- Diarrea
- Sudoración
- Anorexia
- Dolor abdominal
- Síncope

Aunque se han comunicado algunos acontecimientos adversos moderados o severos, se prevé que estos acontecimientos adversos sean mayormente leves en intensidad. Se prevé que los acontecimientos adversos tengan una duración de entre 24-48 horas después de la vacunación, a pesar de que se han reportado acontecimientos de mayor duración. Así, la lista de acontecimientos adversos anterior se considera “esperada” a nivel de los objetivos de notificación expeditiva a las autoridades reguladoras, comités éticos e investigadores.

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): hominidae
iii) Género: Homo
iv) Especie: sapiens
v) Subespecies: sapiens

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)

Desarrollo de respuestas celulares citotóxicas VIH –específicas dirigidas contra las regiones incluidas en el inmunógeno HIVconsv.

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

La posibilidad de transferencia génica a otras especies es mínima en las condiciones de liberación propuestas para el OMG. El OMG se administrará en las unidades hospitalarias arriba mencionadas y es improbable que entre en contacto con otras especies animales. Para que el gen viral codificado HIVconsv se transfiera al genoma de otras especies de poxvirus, las células propensas tendrían que ser infectadas por un poxvirus y a la vez ser transducidas por el vector, lo que resulta 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 <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese:		

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

No es probable que el OMG pueda ser liberado al ecosistema así como su diseminación desde el lugar de liberación, porque tiene una selección de huéspedes muy limitada y por la forma propuesta para la liberación. En el caso improbable de que se produzca la administración

involuntaria a organismos distintos del objetivo, la ulterior diseminación sería improbable, porque en varios estudios se ha demostrado que MVA es avirulento en animales de laboratorio inmunocompetentes e inmunodeficientes y 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

No aplica

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Altamente improbable
b) De otros organismos al OMG: Altamente improbable
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Ninguna, dado que el HIVconsv es una proteína quimérica diseñada exclusivamente para la inducción de respuesta celular específica a través de la unión de 14 fragmentos del genoma del

VIH, por lo que no es patogénica.

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 los hay

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

No aplica

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Los MVA han sido utilizados ampliamente en ensayos clínicos, tanto en administración directa como en estrategias de terapia celular (contenidos en el interior de células). No se ha planificado, en la propuesta actual ni en el ya iniciado HIV-CORE02, ninguna detección viral específica relacionada con el MVA.HIVconv en líquidos biológicos ni en sangre.

Se realizará monitorización de efectos secundarios del tratamiento en ensayo mediante exploración física, analíticas de sangre y orina y comunicación de eventos adversos. La evaluación de la seguridad se realizará a lo largo de la participación de los pacientes en el ensayo clínicos y hasta 48 semanas después de la última inyección en el estudio (ver detalle en protocolo adjunto).

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No planificados dado que el OMG no se encuentra de manera natural en el medio ambiente y tiene carácter no replicativo por lo que se considera que no hay posibilidades de que haya repercusiones en el ecosistema del OMG con capacidad infecciosa.
Se monitorizaran de forma clínica a los pacientes

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

No aplica.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No aplicable: el OMG se administra a los pacientes mediante inyección intramuscular en salas hospitalarias, como se ha descrito en la sección F.

5. Duración del seguimiento

La evaluación de la seguridad se realizará a lo largo de la participación de los pacientes en los ensayo clínicos, incluidas las fases de extensión en el caso de que las hubiera.

6. Frecuencia del seguimiento

Visitas de monitorización durante las que se evaluará la seguridad, se realizarán a la semana, al mes y a los dos meses tras la vacunación.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

El punto de inyección se cubrirá con una tirita o esparadrapo. El lugar de liberación se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1%, y con desinfectantes aprobados por uso GMP, inmediatamente después de la liberación.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El traslado del material utilizado para la preparación e inyección del OMG se realizará en contenedor amarillo herméticamente sellado o en una bolsa roja de grosor especial etiquetada mediante la pegatina de RESIDUOS SANITARIOS – GRUPO III y descontaminarse antes de desecharlo.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Se prevé generar los siguientes residuos: Viales de vacuna, agujas, guantes, batas, mascarilla, tiritas/esparadrapo (24 pacientes en total).

3(b) Tratamiento de residuos

Se introducirán en los siguientes recipientes herméticamente sellados:

Residuos Infecciosos Sólidos:

Deben ir siempre en bolsa roja como Residuos Sanitarios de Grupo III.

Residuos de Objetos Cortantes o Punzantes:

Se depositarán en contenedores específicos, rígidos y estancos, color amarillo, adecuados en tamaño y forma al uso que se les va a dar.

El vial de vacuna se colocará en una bolsa sellada y se guardará en un congelador a -80°C hasta su destrucción al final del ensayo, de forma agrupada.

La retirada y el cierre final, tanto de las bolsas como de los contenedores, se llevará a cabo por personal adecuadamente formado y siguiendo las medidas de protección adecuadas.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

En caso de contaminación el personal involucrado en la preparación, envasado o administración del producto celular se notificará al investigador principal y al Servicio de Prevención de Riesgos Laborales. Todo el personal recibirá instrucciones sobre los procedimientos a actuar en caso de liberación accidental.

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

El lugar en el que se produzca la liberación se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1%.

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 aplica

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

En el caso de contacto con la piel se realizarán lavados enérgicos y posteriormente se desinfectará con una solución con Yodo al 4%.

En caso de contacto con los ojos se realizaran lavados con suero salino por un tiempo no inferior a los 15 minutos. El sujeto tendrá que ser valorado por un oftalmólogo en el menor tiempo posible.

En caso de pinchazo accidental se realizara inmediatamente abundante lavado con agua y jabón y posteriormente la zona de punción será desinfectada con solución de Yodo al 9-12% durante al menos 5 minutos o con solución con hipoclorito sódico de 10 g/l .

Los pacientes incluidos en el ensayo clínico serán monitorizados como está previsto por el protocolo según normas de buenas prácticas clínicas. Se registraran y notificaran los acontecimientos adversos según los procedimientos detallados en el protocolo.

Debido a las modalidades de administración el riesgo de liberación ambiental accidental es muy

bajo. Además al tratarse de un virus sin capacidad replicativa, el riesgo ambiental consecuente a liberación accidental puede considerarse mínimo.