

Fecha: 20 de septiembre de 2016

Referencia N°: VTM FP-LT-AE SNIF ES

Número de páginas: 27

Vectormune FP-LT+AE

Liofilizado para suspensión inyectable para pollos

**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**

Ceva-Phylaxia Veterinary Biologicals Co. Ltd.
H-1107 Budapest, Szállás utca 5.
Telephone: 00 36 (1) 262 9505 – Fax: 00 36 (1) 260 3889
www.ceva.com – ceva-phylaxia@ceva.com

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

Nota previa:

Vectormune FP-LT+AE es una vacuna viva vectorizada desarrollada para la prevención de la viruela aviar (FP) y la laringotraqueitis infecciosa (ILT) en pollos, asociada, en el mismo liofilizado, con una cepa vacunal convencional para la prevención de la encefalomiелitis aviar (AE). El ingrediente activo en la vacuna es un virus FPV vivo modificado, que expresa los genes gB y UL-32 de LTV y una cepa vacunal viva convencional de AE.

En este documento, únicamente presentamos la información relativa a la cepa vacunal vectorizada (también referida como Vectormune FP-LT). Un procedimiento específico de solicitud de estudio clínico de campo se pondrá en marcha con las autoridades españolas de la Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitarios, en cuyo expediente se incluirá información específica sobre el componente AE de la vacuna. Esto permitirá la evaluación completa de los datos con el fin de autorizar la liberación de la vacuna para las pruebas de campo regulatorias.

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/16/10
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	29/09/2016
d) Título del proyecto:	Vacunación de pollos con una vacuna combinada frente a la laringotraqueitis infecciosa (LT), la viruela aviar (FP) y la encefalomiелitis aviar (AE).
e) Período propuesto para la liberación:	Desde la obtención de la autorización hasta la finalización de los estudios clínicos de campo.

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	CEVA Salud Animal, S.A. C/ Carabela La Niña, 12 08017 Barcelona, España Tél: + 34 902 36 72 18 e-mail: pilar.vila@ceva.com
-------------------------------------	---

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>

	Bacteria <input type="checkbox"/> Hongo <input type="checkbox"/> Animal <input type="checkbox"/> - mamíferos <input type="checkbox"/> - insectos <input type="checkbox"/> - peces <input type="checkbox"/> - otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	
b) Identidad del OMG (género y especie)	
<p>Vectormune FP-LT consiste en un virus de la Viruela Aviar modificado genéticamente, para que exprese los genes gB y UL-32 del virus de la laringotraqueítis (LTV), así como el gen LacZ de E. coli. El virus de la Viruela aviar (FPV) pertenece a la familia Poxviridae, género Avipoxvirus. Es el ingrediente activo de Vectormune FP-LT, una vacuna viva liofilizada, para la inmunización de pollos frente al virus de la viruela aviar y la Laringotraqueítis.</p>	
c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:	
<p>La cepa origen del virus FPV se modificó genéticamente mediante recombinación homóloga, para que expresase el gen gB de la cepa campo estadounidense 632 del virus LTV, el gen UL-32 de la cepa NS175 virulenta Japonesa del LTV, y el gen LacZ de E. coli. La estabilidad genética de este OMG se evaluó y comparó a la de la cepa origen del FPV.</p> <p><u>En pollos (<i>in vivo</i>):</u> el OMG y la cepa origen del virus FPV se sometieron a 5 pasajes regresivos en pollos. Los resultados mostraron la ausencia de reacciones adversas a la vacuna o sintomatología clínica; demostrando que ni la cepa de origen ni el GMO revertían a la virulencia después de 5 pases en pollos.</p> <p><u>In vitro:</u> el OMG se sometió también a 5 pases en cultivo celular (fibroblastos de embrión de pollo o CEF). Se comparó el OMG sometido a estos pases con el no sometido a pasajes en CEF, con el plásmido recombinante utilizado para la construcción del OMG y con la cepa origen del FPV no sometida a pases. Los resultados de los pases <i>in vitro</i> evidenciaron que no existían cambios genéticos en el OMG.</p> <p><u>Comparación de las cepas sometidas y no sometidas a pases:</u> El OMG tanto sometido a pases <i>in vitro</i> como <i>in vivo</i> se evaluó comparando la estructura genética y la expresión de proteínas, antes y después de los pases. Los resultados indicaron que el OMG era genéticamente estable tras los pases <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> y no se observaron diferencias inesperadas cuando se comparó con el ADN genómico de la cepa origen de FPV, el ADN genómico del MSV de Vectormune FP-LT y el plásmido recombinante. Para este análisis se utilizaron diversos ensayos: Southern Blot, Western Blot, PCR, secuenciación y Black plaque assays.</p>	

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

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

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:	España y Hungría
- Número de la notificación:	ES: B/ES/13/22 de 21 Abril 2014 (Este ensayo no se llevó a cabo) HU: TMF/15-56/2016 de 11 Julio 2016

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	
- Número de la notificación:	
Actualmente dos vacunas que contienen la misma cepa de OMG (Vectormune FP-LT+AE y Vectormune FP-LT) están autorizadas y comercializadas en los siguientes países: Estados Unidos, Argentina, Bangladesh, Bolivia, Brasil, China, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Egipto, Kuwait, Méjico, Pakistán, Perú, Filipinas, Rusia, Arabia Saudí, Sudáfrica, Tailandia y Ucrania.	

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

<p>El resultado de las evaluaciones del riesgo para el hombre y el medio ambiente, demuestran que el riesgo de Vectormune FP-LT para la salud pública es insignificante. La exposición humana se limita a las personas que administran esta vacuna o que manipulan los pollos vacunados. El virus de la Viruela aviar (FPV) se sabe que no es de importancia para la salud pública y no se conocen documentaciones de infecciones en seres humanos.</p> <p>El OMG es seguro en la especie de destino (pollos) y no se extiende, después de la vacunación, a otros pollos o aves. Tiene un rango de hospedadores reducido y su capacidad de diseminarse en el medio ambiente es muy limitada. El derrame de vacuna en el momento de la aplicación y los insectos pueden ser una posible causa mecánica para la diseminación del OMG. La evaluación del riesgo muestra que estos hechos no constituyen una diseminación efectiva.</p>

El nivel general de riesgo para el medio ambiente del uso de Vectormune FP-LT es insignificante.

Es de destacar que se han utilizado más de 4 billones de dosis de Vectormune FP-LT y Vectormune FP-LT+AE en los EE.UU. y en muchos otros países.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales):	Familia Poxviridae, (subfamilia Chordopoxvirinae)
ii) Género:	Avipoxvirus
iii) Especie:	...
iv) Subespecie:	...

v) Cepa:	Cepa Cutter
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):	...
vii) Nombre vulgar:	Virus de la viruela aviar (FPV)

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí <input checked="" type="checkbox"/>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
La cepa parental está presente en manadas de pollos de todo el mundo, donde la vacunación es una práctica.	
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 type="checkbox"/>	
iii) No se sabe <input type="checkbox"/>	
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En España se utilizan las vacunas frente a FPV donde la viruela aviar está presente.	

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:
Agua <input type="checkbox"/>

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radicales de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

La cepa vacunal Cutter de FPV se replica en pollos; se replica también en pavos y en otras aves no de destino (con una capacidad de propagación muy limitada). Cualquier replicación en células de mamífero se considera “fallida”.

Se realizaron estudios para comparar el rango de hospedadores del OMG con el de la cepa parental FPV. Los primeros estudios se realizaron en pavos, codornices, palomas, pinzones y en especies mamíferas – ratones y cerdos. En segundo lugar se realizaron estudios en patos, pavos, codornices, palomas, gallinas de guinea y faisanes. Los resultados indicaron que la dosis alta usada para la vacunación de las especies no de destino provocó signos locales de respuesta a la vacunación en todas especies excepto en palomas, pinzones, ratones y cerdos; también evidenció que el rango de hospedadores es el mismo para el OMG y para la cepa parental FPV.

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

5.a) Técnicas de detección

El virus se puede cultivar tanto en cultivos primarios como secundarios de células de pollo, tales como fibroblastos embrionarios, y provoca un efecto citopático típico (CPE). FPV también se puede detectar en el tejido inflamado del ala unos días después de la vacunación mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR en el ADN extraído del virus).

5.b) Técnicas de identificación

El virus FPV se puede identificar marcando los loci virales con ayuda del método de inmuno-fluorescencia utilizando anticuerpos específicos FPV. Como alternativa, puede llevarse a cabo su detección a partir de ADN extraído del virus utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando cebadores específicos del genoma de FPV.

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 type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> *
<p>En caso afirmativo, especifíquese: *: El virus parental FPV es una cepa vacunal con licencia Europea y del USDA. No aparece en la sección Poxviridae del anexo III de la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo. No es patógeno para los seres humanos, animales o plantas.</p>	

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"/>
<p>En caso afirmativo</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:</p> <p style="margin-left: 20px;">humanos <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-left: 20px;">animales <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-left: 20px;">plantas <input type="checkbox"/></p> <p style="margin-left: 20px;">otros <input type="checkbox"/></p>		
<p>b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.</p>		

8. Información sobre reproducción

<p>a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:</p> <p>Como los virus sólo puede replicarse en células permisivas derivadas de las especies diana susceptibles, el tiempo de generación para los virus se puede definir como el tiempo medio desde la liberación del virión hasta que infecta a otra célula. Sin embargo, desde el punto de vista práctico, es más útil definirlo como el tiempo transcurrido desde la infección inicial hasta la diseminación de los viriones en el hospedador. En las aves, la biosíntesis del FPV en el epitelio cutáneo comprende dos fases distintas: una respuesta del hospedador que se caracteriza por una marcada hiperplasia celular durante las primeras 72 horas y la síntesis del virus infeccioso de las 72 a 96 horas. La replicación del</p>
--

<p>ADN del virus de la viruela aviar en el epitelio dérmico comienza entre las 12 y 24 horas después de la infección y es seguida por la primera aparición de virus infeccioso a las 22-24 horas.</p>
<p>b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:</p> <p>El mismo que el explicado en la sección 8.a)</p>
<p>c) Modo de reproducción</p> <p style="text-align: center;">Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/></p>
<p>d) Factores que afectan a la reproducción:</p> <p>No procede</p>

9. Capacidad de supervivencia

<p>a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo</p> <p>(i) endosporas <input type="checkbox"/></p> <p>(ii) quistes <input type="checkbox"/></p> <p>(iii) esclerocios <input type="checkbox"/></p> <p>(iv) esporas asexuales(hongos) <input type="checkbox"/></p> <p>(v) esporas sexuales (hongos) <input type="checkbox"/></p> <p>(vi) huevos <input type="checkbox"/></p> <p>(vii) pupas <input type="checkbox"/></p> <p>(viii) larvas <input type="checkbox"/></p> <p>(ix) otras (especifíquense) <input type="checkbox"/></p> <p>El virus de la viruela aviar no desarrolla estructuras de supervivencia. La replicación de los Avipoxvirus se limita a las especies aviares.</p>
<p>b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia</p> <p>La replicación de los Avipoxvirus se limita a especies aviares. El virus de la viruela aviar como virus que es, no desarrolla estructuras de supervivencia. La cepa de origen y el OMG, como virus que son, únicamente tienen la capacidad de replicarse en células vivas permisivas. Ensayos de laboratorio han determinado que la supervivencia de la cepa origen en la yacija es de un máximo de 8 horas. La cepa de origen y el OMG no se transmiten de ave a ave.</p>

10.a) Vías de diseminación

La replicación de la cepa parental FPV y del OMG en pollos vacunados, es limitada y no se diseminan a pollos no vacunados en contacto. La difusión de la vacuna al medio ambiente será restringida por su uso en los gallineros. La vacuna podría derramarse en la granja durante la preparación de la misma (derrame por accidente). Las cantidades derramadas serán muy pequeñas, dado el volumen de dosis vacunal. El OMG ha demostrado tener una capacidad de supervivencia limitada en el medio ambiente en caso de derrame. El polvo conteniendo virus derramado o los insectos que se alimenten de pollos vacunados mientras el virus se replica en el revestimiento cutáneo del ala, son otras dos formas de diseminación.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

La multiplicación de la cepa parental en aves vacunadas es muy baja; la vacuna no se transmite a partir de las aves vacunadas. La supervivencia de la cepa es reducida, lo que disminuye la posibilidad de diseminación. En caso de derrame, los procedimientos de limpieza y desinfección reducen aún más el riesgo de diseminación. El lugar y el tiempo muy limitado donde y cuando la cepa de la vacuna se replica en la piel, limita en gran medida la posibilidad de que un insecto pueda diseminar con eficacia cantidades significativas de la cepa de vacuna viva a otra ave.

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)

Ninguna.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

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

v) Otro (especifíquese)

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Expresión de los genes gB y UL-32 del virus LTV de forma que actúen como antígenos para lograr la inmunización frente a la enfermedad de la Laringotraqueítis.

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:	
pNZ29R/LT-UL32gB	

c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
E. Coli	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Se utiliza el gen LacZ para conferir un fenotipo seleccionable al plásmido. No se utilizan genes de resistencia a antibióticos.	
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense) LacZ	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: No procede	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
El vector o plásmido recombinante está constituido por los siguientes elementos: una región homóloga no esencial del genoma de FPV; cADN del gen gB del virus LTV; cADN del gen UL-32 del virus LTV; cADN del gen Lac Z de E. coli; un promotor sintético, P17, el cual dirige la transcripción del gen LacZ y otro promotor sintético, Ps, que dirige la transcripción de los genes gB y UL-32 del LTV.	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense)	
Se transfiere el plásmido a un cultivo celular de fibroblastos de embrión de pollo, (CEF) infectado con FPV. Las secuencias de interés se recombinan por recombinación homóloga en el genoma de FPV.	

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

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción: Los genes insertos son el gB y UL-32 del LTV, así como el gen LacZ de E. coli.
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: Los fragmentos genéticos utilizados son los promotores sintéticos, Ps y P17, los genes gB y UL-32 del virus de la laringotraqueítis, así como el gen LacZ de E. coli.
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG Inmunización frente al virus de la laringotraqueítis y como marcador. La proteína gB es una glicoproteína de envoltura y en los herpesvirus media la entrada del virus, la fusión celular y la salida del virus. En herpesvirus, la proteína UL-32 desempeña un papel llevando las cápsides pre-ensambladas a los sitios de empaquetamiento del ADN del virus. El gen LacZ codifica la β-galactosidasa, que funciona como un excelente marcador para distinguir el virus recombinante del FPV de origen.
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma - Otros especifíquense): Localizado en el genoma de la cepa origen del virus FPV.
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> En caso afirmativo , especifíquese:

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

Los organismos donantes de los genes y las secuencias son:

- (1) La cepa de campo EE.UU. 632 del virus de LT, obtenido por el Dr. Calvin L. Keeler, Jr., de la Universidad de Delaware, que dona el gen gB.**
- (2) Una cepa virulenta japonesa de LT, NS175, adquirida de Japanese Associates of Veterinary Biologics, que dona el gen UL-32.**
- (3) E. coli que dona el gen LacZ que codifica la β -galactosidasa.**

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):	Herpesvirales
ii) Familia (plantas):	Familia Herpesviridae Subfamilia Alphaherpesvirinae
iii) Género:	Iltovirus
iv) Especie:	<i>Gallid herpesvirus 1 (Infectious laryngotracheitis virus, ILTV)</i>

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

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

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

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> *
En caso afirmativo , especifíquese:	
<p>* ILTV no se incluye en la Directiva 2000/54/CE de la UE sobre la protección de los trabajadores frente a riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante la manipulación. A parte de las aves no se conocen otras especies que sean susceptibles a la infección con LTV y no se considera zoonosis.</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

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>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> * No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>* El índice de supervivencia del OMG es igual o inferior al de la cepa origen del FPV.</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> * No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>* Todas las pruebas realizadas en la cepa origen y en el OGM mostraron los mismos resultados: ambas cepas son seguras en las especies de destino (pollos) y las especies aviares no de destino; ninguna de las dos cepas se disemina desde los pollos vacunados y los pavos, y tienen una diseminación muy limitada en otras especies aviares; no se ha observado que repliquen en mamíferos. Otras características adicionales evaluadas (tropismo tisular, estabilidad ambiental) del OMG siguen siendo las mismas que las de la cepa de origen.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El OMG demostró que era genética y fenotípicamente estable después de cinco pases sucesivos a través de pollos, ya que no revertía a la virulencia. La estabilidad genética *in vivo* del OMG se confirmó mediante pruebas moleculares, para verificar la estabilidad de las inserciones de genes y la expresión génica. Se determinó la estabilidad de los genes insertos mediante análisis de Southern Blot y la secuenciación de regiones importantes del ADN de los genes insertos. La expresión de los genes se verificó utilizando antisueros específicos de la proteína para identificar cada producto génico mediante ensayos en placa y Western Blot.

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		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

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

El virus se puede cultivar en cultivos primarios o secundarios de células de pollo, tales como fibroblastos de embriones, y provoca un efecto citopático típico (CPE). FPV también se puede detectar en el tejido inflamado del ala unos días después de la vacunación mediante el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en ADN extraído del virus.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El GMO se puede identificar marcando los loci virales con ayuda del método de inmuno-fluorescencia utilizando anticuerpos específicos frente al producto expresado por los genes ILT insertados. Como alternativa, puede llevarse a

cabo su detección a partir de ADN extraído del virus utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), usando sondas específicas para los genes insertados y sitios de inserción.

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de la liberación es llevar a cabo en España los ensayos clínicos de campo para completar el expediente de registro europeo de acuerdo con lo establecido en la Directiva 2009/9/CE.

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:

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

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

Granja 1: granja de recría de pollitas: Ous de Ponent, Linyola (Lleida), comarca del Pla d'Urgell.

Granja 2: granja de puesta: Avícola Huguet, S.A., Maldà (Lleida), comarca de l'Urgell.

b) Área del lugar (m²): **La vacuna se administrará en 1 granja (vacunación en la granja de recría); más tarde las pollitas serán transferidas a la granja de puesta.**

(i) lugar real de la liberación (m²): **Granja de recría: 3980 m²
Granja de puesta: 3024 m²**

(ii) área de liberación más amplia (m²): **no relevante**

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

Ninguno en las proximidades de las granjas.

Debe tenerse en cuenta que la granja de puesta está próxima (100m aproximadamente) a un canal de agua para riego; las características de la vacuna son tales que tras la vacunación no hay diseminación significativa a partir de las pollitas vacunadas. Por otra parte, las pollitas llegaron a la granja de puesta 5 semanas después de la vacunación. En la práctica no hay riesgo de propagación de la cepa vacunal en esta granja

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

La flora no se ve afectada por el FPV o el OMG.

La fauna: en las dos granjas (recria de pollitas y puesta) solamente se crían pollos. Hay otras granjas en los alrededores pero teniendo en cuenta el hecho de que las naves avícolas están cerradas y que la cepa vectorizada no se disemina a partir de las pollitas vacunadas, no se prevé la exposición a cualquier tipo de aves domésticas o silvestres. Tampoco se espera que la fauna de mamíferos entre en contacto con la vacuna y en cualquier caso no son sensibles a ella.

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Se vacunará un máximo de 37.000 pollitas (37.000 dosis) en la Granja 1.

b) Duración de la operación:

Para la vacunación de un lote es necesario un máximo de 3 días.

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

No se necesitan técnicas especiales ya que la vacuna no se diseminará demasiado durante la vacunación (limitándose al derrame de misma) ni después de la vacunación (no se espera ni propagación ni difusión).

Se puede inactivar o eliminar fácilmente utilizando desinfectantes comunes (10% de lejía clorada, 10% de yodo, o un desinfectante equivalente). También existen procedimientos establecidos para desechar tanto el material como la suspensión de vacuna restante, después de la vacunación.

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

Clima mediterráneo con tendencia continental con inviernos fríos y largos y veranos calurosos. Desde finales de otoño y durante todo el invierno suelen formarse nieblas que a veces permanecen durante días. Las precipitaciones son escasas e irregulares.

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

Actualmente dos vacunas que contienen la misma cepa de OMG están autorizadas y comercializadas en los siguientes países: Estados Unidos, Argentina, Bangladesh, Bolivia, Brasil, China, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Egipto, Kuwait, Méjico, Pakistán, Perú, Filipinas, Rusia, Arabia Saudí, Sudáfrica, Tailandia y Ucrania.

El riesgo para la salud pública por el empleo de esta vacuna es insignificante. La exposición humana se limita a las personas que administran esta vacuna o que manipulan los pollos vacunados. El virus de la Viruela aviar (FPV) se sabe que no es de importancia para la salud pública y no se conocen documentaciones de infecciones en seres humanos.

Hasta la fecha se han administrado más de 4 billones de dosis del OMG en EE.UU. y en otros países y no se han reportado reacciones adversas ni impactos ambientales.

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

La interacción del OMG con el medio ambiente no es distinta a la del virus de la viruela aviar parental. La cepa parental del virus de la viruela aviar se ha usado de forma segura por todo el mundo durante más de 20 años en producción avícola, para la vacunación de las aves frente a la enfermedad de la viruela aviar; el OMG está autorizado desde hace más de 10 años y ha sido utilizado de forma segura en diferentes partes del mundo.

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

i) Orden y taxón superior (animales):	Galliformes
ii) Familia (plantas):	NA
iii) Género:	<i>Gallus</i>
iv) Especie:	<i>Gallus Gallus</i>
v) Subespecies:	<i>G. Gallus Domesticus</i>
vi) Cepa:	NA
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	NA
viii) Patovar:	NA
ix) Nombre vulgar:	NA

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

Mediante la vacunación de las aves con el OMG se prevé el desarrollo de una respuesta inmune protectora frente a las enfermedades de la laringo-traqueítis infecciosa y la viruela aviar.

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

Dado que el OMG no se propaga a partir de pollos vacunados y que la difusión en el medio ambiente a través de otros medios sería extremadamente limitado, no es de esperar que se produzcan interacciones significativas con otros organismos.

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:		
<p>Los resultados de la estabilidad genética, como se explica en el apartado A.3.c., muestran que no se esperan tales cambios en las aves vacunadas. Los estudios de pases sucesivos en aves han demostrado que el OMG no revierte a la virulencia tras los pases. Por otra parte, no es probable que la vacuna se propague desde los animales vacunados y se disemine entre las aves no vacunadas, reduciendo aún más las posibilidades de que ocurran estas situaciones.</p>		

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

<p>El OMG tiene un rango limitado de hospedadores y en los ensayos llevados a cabo por el solicitante se demuestra que sólo se replica en pollos y en especies aviares no de destino cuando se utiliza una cantidad muy significativa de OMG para la vacunación. Teniendo en cuenta la ausencia de diseminación y difusión del OMG a partir de los pollos vacunados y la correcta vacunación y las prácticas de manejo, no existe riesgo de diseminación a granjas de pollos, pavos, u otras aves (faisanes, gallinas de guinea...) no vacunados, situadas en las proximidades de las granjas vacunadas. Incluso si tuviera lugar la diseminación, el OMG es seguro para estas especies, tal como demuestran los estudios.</p>

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

Ninguno

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

<p>a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:</p> <p>Es de destacar que la replicación de los virus ADN (como el OMG) tiene tasas de mutación y variabilidad genética mucho más bajas que los virus ARN. Además la “superinfección” vírica de una célula ya infectada por otro virus es un fenómeno poco probable. Sin embargo, el intercambio de material genético del OMG a otro virus presente en las células de pollo donde se replica, en teoría no puede excluirse totalmente. Esta recombinación genética podría entonces ser remotamente posible con otros virus FPV. La consecuencia podría ser la aparición de otro FPV que expresara los genes gB y UL-32 de LTV o parte de estos genes, y al mismo tiempo el OMG perdería parte de las secuencias insertadas. La posibilidad de que estos hechos ocurran no es mayor que para la cepa origen del FPV recombinando con otro FPV. De forma global, no se han descrito intercambios genéticos <i>in vivo</i> del OMG a otros organismos.</p>
<p>b) De otros organismos al OMG:</p> <p>Como se ha explicado en el apartado anterior, los intercambios genéticos <i>in vivo</i> de otros FPV al OMG son teóricamente posibles, pero nunca se han descrito. Se ha informado de un fenómeno muy general en varias cepas vacunales presentes en el mercado, incluyendo la cepa de origen del OMG: la integración de fragmentos no-replicantes del genoma del virus de la reticuloendoteliosis aviar (otro virus de pollos) en el genoma de las cepas del virus de la viruela. También se comprobó que estas inserciones son totalmente inactivas y no comprometen la seguridad de las vacunas que lo contienen.</p>
<p>c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:</p> <p>Las posibilidades de intercambio genético no se incrementan por el OMG y si se produce este fenómeno tan raro, no se espera que el resultado sea perjudicial. De hecho, la consecuencia puede ser la aparición de otros FPV que expresen los genes gB y UL-32 del LTV. Esto podría inducir la inmunización y la producción de anticuerpos contra LTV en las aves que alberguen dicho virus. Además, debe tenerse en cuenta que todo el material insertado que podría ser objeto de esta transferencia no conlleva a la expresión de rasgos inesperados y/o indeseables.</p>

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.)

Los estudios de seguridad en especies no de destino y en entornos simulados, llevados a cabo por el solicitante, comparando el OMG y la cepa origen de FPV muestran que el OMG es seguro y no se han observado cambios indeseables cuando se ha comparado con la cepa FPV de origen.

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

No procede, el OMG no participan en procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

La cepa vacunal se puede detectar mediante PCR, como se describe anteriormente en la sección B.5.a.

Salvo que tenga lugar un evento no esperado, no se requiere ninguna monitorización específica del OMG distinta del seguimiento para el ensayo clínico, puesto que no se considera necesario.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Las aves vacunadas serán monitorizadas regularmente. Los posibles efectos adversos se comunicarán a la empresa y a las autoridades pertinentes de acuerdo con los procedimientos estándar de farmacovigilancia.

Debe tenerse en cuenta que el FPV es incapaz de replicarse en seres humanos o en mamíferos y se ha demostrado que no se transmite entre pollos, por lo tanto no debería haber ninguna propagación del virus a partir de los animales vacunados. El OMG no es capaz de sobrevivir más de 8 horas, no puede extenderse y no es patógeno para animales o plantas. No debería haber fauna silvestre susceptible presente en los alrededores de la zona, no obstante en el caso de que existieran aves no de destino pero susceptibles, no pueden recibir por ningún medio la dosis necesaria para inducir la multiplicación de la cepa

(sin difusión a través de los pollos vacunados, polvo portador de virus a partir del derrame únicamente con dosis infectante extremadamente baja, así como la transmisión mecánica altamente improbable través de insectos que pican). No se espera ningún efecto en el ecosistema.

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

En caso de que sea necesario, la presencia de la secuencia insertada se puede detectar mediante PCR, tal y como se describe en la sección B.5.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

El área de monitorización serán las granjas donde se vayan a vacunar las aves. Ver la descripción en el apartado F.3.

5. Duración del seguimiento

La monitorización de las granjas se realizará durante toda la vida de las aves vacunadas.

6. Frecuencia del seguimiento

La monitorización general se centrará en controles rutinarios del estatus sanitario de las granjas.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Las superficies utilizadas durante la vacunación deben limpiarse con desinfectantes tal y como se describe en el párrafo F.4 (c). Todos los materiales utilizados durante la vacunación serán desechados utilizando calor o desinfectante.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Aparte del material utilizado para la vacunación y el posible derrame limitado en el momento de preparación de la vacuna, no se prevé la liberación del OMG al medio ambiente.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Durante la vacunación: Viales de vacuna, agujas, jeringuillas y delantales desechables.

3(b) Tratamiento de residuos

Destrucción de acuerdo a los procedimientos para los residuos infecciosos.

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

A partir del derrame de la vacuna puede producirse diseminación del OMG. Puede destruirse químicamente mediante un desinfectante como lejía clorada al 10%, yodo al 10%, o un desinfectante acuoso equivalente. La vacuna que pueda ser derramada durante el procedimiento de vacunación se limpiará con material absorbente y con los desinfectantes prescritos. Todos los materiales utilizados durante la limpieza se desinfectarán con los mismos productos o por calor.

Teniendo en cuenta que la cantidad que pueda derramarse es muy limitada, no es necesario prever un procedimiento específico para la limpieza general de los alojamientos en los que se mantendrán los animales hasta el final del ciclo de producción. En cualquier caso, al final del ciclo de producción, los alojamientos de las aves serán desinfectados mediante desinfección habitual y los métodos de limpieza vigentes en la granja.

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

Ver el párrafo J.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 procede. El OMG no es capaz de sobrevivir en el medio ambiente más de 8 horas. No se propaga a partir de los pollos a otros animales.

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

El riesgo del uso de esta vacuna para la salud pública es insignificante. La exposición humana se limita a las personas que administran esta vacuna o manipulan las aves vacunadas. El virus de la Viruela aviar (FPV) se sabe que no es de importancia para la salud pública y no se conocen documentaciones de infecciones en seres humanos.

En general, el riesgo para el medio ambiente se minimiza mediante su uso en un entorno controlado, en la granja. Toda reacción adversa se comunicará a la empresa y a las autoridades pertinentes de acuerdo a los procedimientos de farmacovigilancia en vigor.