

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

| | |
|--|---|
| a) Estado miembro de la notificación: | España |
| b) Número de la notificación: | B/ES/23/06 |
| c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: | 07-Feb-2023 |
| d) Título del proyecto: | Estudio en fase II abierto, de dos partes, de exploración de dosis y ampliación múltiple, de ONCOS-102 en combinación con nuevos fármacos antineoplásicos de inmunoterapia en pacientes con melanoma cutáneo irreseccable o metastásico resistente al tratamiento contra PD-(L)1. |
| e) Período propuesto para la liberación: | 01 de abril de 2023 a 30 junio de 2027 |

2. Notificador

| | |
|-------------------------------------|---|
| Nombre de la institución o empresa: | Targovax OY Lars Sonckin kaari 14, 02600 Espoo, Finlandia |
|-------------------------------------|---|

3. Definición del OMG

| | |
|---|---|
| a) Indíquese si el OMG es: | |
| | Viroide <input type="checkbox"/> |
| | Virus ARN <input type="checkbox"/> |
| | Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/> |
| | Bacteria <input type="checkbox"/> |
| | Hongo <input type="checkbox"/> |
| | Animal <input type="checkbox"/> |
| | - mamíferos <input type="checkbox"/> |
| | - insectos <input type="checkbox"/> |
| | - peces <input type="checkbox"/> |
| | - otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase |
| Otro, especifíquese (reino, phylum y clase) | |

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género Mastadenovirus

Especie Adenovirus C, serotipo 5

ONCOS-102 (previamente llamado CGTG-102) es un adenovirus humano basado en el serotipo 5, oncolítico, modificado genéticamente y capaz de replicarse. Está formado por un transgén con factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y tiene una delección de 24 pb que restringe la replicación solo en tumores. La cápside vírica se ha modificado para lograr una transducción eficaz de las células tumorales.

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

En general, al tratarse de virus de ADN bicatenario con un tamaño de genoma de aproximadamente 36 kb, los adenovirus se consideran genéticamente estables. La ADN polimerasa del virus tiene actividad de corrección y elimina nucleótidos no coincidentes. Sin embargo, la posibilidad de coinfección permite la recombinación natural entre los adenovirus. Desempeña un papel importante en la configuración de las relaciones filogenéticas de los genomas del adenovirus (Lukashev et al 2008). La recombinación se produce en su mayor parte entre cepas de las mismas especies de adenovirus, en regiones de homología, pero supuestamente no entre especies de adenovirus.

Los adenovirus también pueden recombinarse con el ADN cromosómico y, como resultado, las secuencias de vectores pueden integrarse en el genoma de la célula a la que se adhieren. Sin embargo, normalmente el ADN del vector permanece episomal y se elimina cuando la célula se divide o muere. Los efectos adversos originados por la integración del adenovirus en el ADN de las células huésped son poco probables, porque la mayoría de los genomas virales integrados son defectuosos y contienen un número sustancial de deleciones. Muchas o la mayoría de las integraciones del ADN de los adenovirus no tienen consecuencias biológicas reconocidas y la integración del ADN viral no produce necesariamente una transformación.

Para garantizar la estabilidad genética, se utilizan células huéspedes A549 en la producción de ONCOS-102. La línea celular A549 no posee ninguna secuencia adenoviral; por lo tanto, el riesgo de que se produzca una recombinación genómica del virus durante el proceso de fabricación es prácticamente nulo. El diseño del constructo de ONCOS-102 mejora la estabilidad genética restringiendo la longitud de las secuencias insertadas y, por lo tanto, asegura la capacidad de empaquetamiento del virus. Como consecuencia, durante la producción del virus, el genoma de ONCOS-102 se empaqueta eficientemente y tiene menos probabilidades de reordenarse, lo que puede dar lugar a cambios inesperados en sus propiedades.

A partir del lote de referencia de ONCOS-102 se ha secuenciado el genoma completo y se ha comparado con la Secuencia de Referencia de NCBI AC_000008.1. Las regiones que difieren de la secuencia Ad5 se construyeron de la siguiente manera:

- E1A con eliminación de 24 pares de bases: Se utilizó el artículo (Fueyo et al. 2000) como referencia para localizar los 24 pares de bases eliminados de CR2 del E1A, en concreto los pares de bases 919-943. Se eliminaron los pares de bases de la secuencia.

- Eliminación en E3: Como referencia, se utilizó el artículo (Kanerva et al. 2005) para localizar la eliminación de 965 pares de bases en E3.
- hGM-CSF en E3: Se utilizó un plásmido comercial pORF.hGM-CSF (Invitrogen) para clonar el gen hGM-CSF en el sitio de delección en E3. Por lo tanto, se obtuvo la secuencia de hGM-CSF de Invitrogen. Se conservaron los sitios de las enzimas de restricción procedentes de E3 para SunI y MunI en ambos extremos de la secuencia del gen, ya que se amplificó el gen hGM-CSF con cebadores que contenían dichos sitios y se subclonaron en el vector lanzadera pTHSN.
- Fibra química: La secuencia del dominio knob del Ad5 se sustituyó por el dominio knob del Ad3, la secuencia AB361380.1 en la base de datos del NCBI.

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: NO, FR | |

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: Italia, República Checa, España | |
| - Número de la notificación: B/IT/17/01; B/CZ/16/2 and B/ES/16/04 | |

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: EE.UU | |
| - Número de la notificación: no procede | |

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

El primer aspecto tenido en cuenta en el diseño de ONCOS-102 ha sido la seguridad. ONCOS-102 es un virus oncolítico: se replica de forma selectiva en las células cancerosas, por lo tanto, en teoría no puede replicarse en personas sanas.

Si una persona sana se viera expuesta a ONCOS-102, lo más probable es que no contrajera una infección debido a su naturaleza específica para el cáncer. Sin embargo, incluso si se produjera la infección, los síntomas serían leves, principalmente síntomas gripales o gastrointestinales leves.

Los datos de seguridad derivados de los pacientes tratados en los estudios clínicos anteriores (C1, C719, C824) muestran que los efectos secundarios del tratamiento con el virus son leves. Los acontecimientos adversos más frecuentes relacionados con el tratamiento fueron pirexia, escalofríos, fatiga, dolor en el lugar de la inyección, sensación de frío, hiperhidrosis, disminución del apetito y náuseas. Teniendo en cuenta que los pacientes padecieron cáncer resistente asociado a un estado inmunodeprimido, y que fueron tratados con altas dosis de ONCOS-102, la

conclusión es que ONCOS-102 se puede considerar seguro en personas sanas.

Basándose en una evaluación de riesgos, el principal riesgo de ONCOS-102 es que el personal esté expuesto al virus mediante punción accidental con una aguja o por contaminación superficial. Las directrices de manipulación de ONCOS-102 indican que todas las personas implicadas en la preparación y administración de la dosis deben seguir las precauciones generales y vestir el equipo de protección personal (EPI). La preparación de la dosis se debe realizar en una cámara de seguridad biológica (CSB) con un dispositivo de transferencia de sistema cerrado para reducir los riesgos de la posibilidad de generar e inhalar aerosoles. Un farmacéutico cualificado con formación específica sobre el protocolo será el responsable de la recepción de los materiales de ONCOS-102, de la conservación, de la documentación de la trazabilidad del producto en el centro de investigación y de la reconstitución el día de administración.

Si una persona se pincha por accidente, el volumen que llegará al cuerpo es minúsculo, prácticamente el de la gota que estuviera en la punta de la aguja. Incluso en el peor de los casos, teniendo en cuenta la cantidad de virus sin diluir, la dosis máxima estimada administrada accidentalmente es menor que la dosis del tratamiento. Como se ha indicado anteriormente, los efectos secundarios del tratamiento con ONCOS-102 normalmente son solo leves. Por lo tanto, es muy poco probable que una dosis accidental cause síntomas en una persona sana.

Se han redactado medidas preventivas, incluidos protocolos normalizados de trabajo y formación del personal, para minimizar y controlar el riesgo de contaminación de las superficies.

El riesgo global que conlleva la transmisión de ONCOS-102 a un receptor no diana y al medio ambiente se considera insignificante. De la misma forma, también se considera insignificante el riesgo de exposición secundaria por diseminación.

El riesgo que supone el adenovirus de tipo salvaje para un destinatario no diana, ya sea por contaminación o recombinación, o las secuencias del ADN viral para el medioambiente se considera insignificante, ya que se combina el bajo nivel de consecuencias de la exposición y la poca probabilidad de que esto ocurra.

Se han incorporado medidas de gestión del riesgo para minimizar los riesgos de la exposición a las personas no diana o al medio ambiente. Se proponen estrategias de monitorización acertadas para reunir más información acerca de la seguridad, la persistencia y la diseminación antes de llevar a cabo un desarrollo a mayor escala.

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

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

| | |
|------------------------------------|--------------------------|
| 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): Adenoviridae |
| ii) Género: Mastadenovirus |
| iii) Especie: Adenovirus C |
| iv) Subespecie: Serotipo 5 |
| v) Cepa: |
| vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): |
| vii) Nombre vulgar: |

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"/> Los adenovirus son altamente estables y resistentes a la deshidratación, la temperatura y el pH. Son capaces de subsistir en el suelo, agua o zonas contaminadas por heces humanas. |
| En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra: | |
| Atlántico | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Mediterráneo | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Boreal | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Alpino | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Continental | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Macaronésico | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) No | <input type="checkbox"/> |
| iii) No se sabe | <input type="checkbox"/> |
| c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica? | |
| Sí <input type="checkbox"/> | No <input checked="" type="checkbox"/> |

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense): Los adenovirus humanos de serotipo 5 son específicos del ser humano. Los adenovirus de tipo salvaje son estables, lo que permite una supervivencia prolongada fuera del organismo.

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

5. a) Técnicas de detección

Técnicas de cultivo celular in vitro.

5. b) Técnicas de identificación

Métodos de PCR convencional y PCR cuantitativa de alta sensibilidad, detección de anticuerpos, análisis de encimas de restricción y secuenciación.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese: Los adenovirus han sido asignados al grupo de riesgo 2 por los Institutos Nacionales de Salud (Directrices de los INS para la Investigación con Moléculas de Ácido Nucleico Recombinante o Sintético, abril de 2019) y la Comunidad Europea (Directiva 2000/54/CE).

Para trabajar con este vector es necesario un laboratorio de contención de nivel 2 de bioseguridad.

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

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

Patogenicidad

El adenovirus de tipo salvaje es un patógeno frecuente en los seres humanos. Causa una amplia variedad de enfermedades.

Infectividad

El adenovirus es capaz de infectar múltiples sistemas de órganos. Tiene una prevalencia mundial y es ubicuo durante todo el año. El serotipo 5 es uno de los serotipos más frecuentes. La infección varía en cuanto a manifestación clínica y gravedad; sin embargo, la mayoría de las infecciones son asintomáticas. Los adenovirus del grupo C de los tipos 1, 2 y 5 se asocian a infecciones de las vías respiratorias, pero pueden diseminarse potencialmente en huéspedes y neonatos inmunodeprimidos, lo que causa una morbilidad e incluso mortalidad significativas. El modo de transmisión del adenovirus es a través de las vías respiratorias y la vía oro-fecal. La infección también puede propagarse a causa de falta de higiene en los dedos, vómitos o soluciones oftalmológicas. La transmisión aérea ocurre por medio de aerosoles de gotícula pequeña y, en menor medida, de gotícula grande (Robinson 2007).

Las alteraciones en ONCOS-102 han reducido la infectividad y la patogenicidad en comparación con el Ad5 de tipo salvaje y los cambios debidos a los genes insertados se limitan exclusivamente a las células cancerosas donde el virus puede replicarse.

Toxigenicidad

Varios factores del adenovirus contribuyen a la patogenicidad: Los pentones son directamente citotóxicos y durante el proceso de replicación viral y la lisis de las células susceptibles, las proteínas virales tempranas contrarrestan el factor de necrosis tumoral (TNF) y la apoptosis, y regulan a la baja la expresión de las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y de este modo previenen el reconocimiento por parte de las células T citotóxicas.

Virulencia

Las infecciones por adenovirus son frecuentes, se distribuyen a nivel global y se producen a lo largo de todo el año. Los adenovirus endémicos, que incluyen entre otros los serotipos Ad1, Ad2, Ad3, Ad5, Ad6, infectan en conjunto a más del 80 % de la población humana en fases tempranas de la vida, observando la incidencia máxima de infección entre los 6 meses y los 5 años. A diferencia de los serotipos endémicos, que infectan principalmente a niños, los demás serotipos de adenovirus se dan en epidemias y pueden infectar a cualquier persona que no haya sido previamente infectada por los mismos (Norkin 2010).

Con un tropismo amplio, el adenovirus puede infectar varias células, tanto proliferantes como inactivas. Por lo tanto, son capaces de infectar múltiples sistemas de órganos. El lugar de entrada determina por lo general el lugar de infección. Las infecciones de las vías respiratorias son consecuencia de la inhalación de gotículas, mientras que la afectación gastrointestinal se debe a la transmisión oral-fecal. La mayoría de las infecciones endémicas de adenovirus más frecuentes son asintomáticas, lo que aumenta considerablemente la propagación.

Alergenicidad

El adenovirus activa el sistema inmunitario para proteger al organismo de los efectos nocivos. No se puede considerar como una reacción de hipersensibilidad o como una sobrerreacción a una sustancia inofensiva (un alérgeno).

Posible activación de los virus latentes (provirus)

Los adenovirus humanos pueden mostrar una latencia y persistencia considerable tras una infección aguda. Algunos tipos son capaces de establecer infecciones asintomáticas persistentes en las amígdalas y adenoides: se pueden encontrar en el tejido adenoide durante una amigdalectomía rutinaria.

El adenovirus es resistente a las secreciones gástricas, las proteasas biliares y pancreáticas, por lo que puede pasar por el estómago y replicarse en el intestino.

Los adenovirus también pueden causar infecciones latentes en los linfocitos de las mucosas que pueden dar lugar a la reactivación de la producción de virus infecciosos.

La diseminación prolongada del virus desde varios lugares del organismo contribuye a la transmisión.

Capacidad para colonizar a otros organismos: No coloniza otros organismos.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: El adenovirus es un parásito humano obligatorio. Los viriones están metabólicamente inactivos fuera de la célula en la que se alojan.

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

c) Modo de reproducción Sexual Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción: Dentro del huésped, el adenovirus se puede aprovechar de la respuesta inmunológica alterada: En personas inmunodeprimidas (muy jóvenes o de edad avanzada) y en aquellas inmunodeprimidas debido a un tratamiento o a una afección subyacente como el tratamiento inmunodepresor con fármacos citotóxicos, el uso de corticoesteroides, radioterapia, SIDA, desnutrición o quemaduras graves, las infecciones tienden a ser más prolongadas, más graves y, a veces, incluso mortales. Durante los últimos años, los adenovirus se consideran cada vez más como patógenos virales importantes, lo que puede estar relacionado con el aumento de la población inmunodeficiente y sobre todo de pacientes con inmunodeficiencias adquiridas.

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 | <input type="checkbox"/> |
| vii) | pupas | <input type="checkbox"/> |
| viii) | larvas | <input type="checkbox"/> |
| ix) | otras (especifíquense) | |

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los adenovirus son resistentes a los desinfectantes líquidos, pero se inactivan mediante formaldehído y cloro (Flomenberg, 2009). Así mismo, también se produce una inactivación variable con yodo y luz UV. El ADN vírico se puede seguir detectando una vez destruida la infectividad. Las modificaciones genéticas de ONCOS-102 no interfieren en la sensibilidad a la inactivación física y química.

Inactivación física: El adenovirus de tipo salvaje se puede inactivar con calor. Si se calienta a temperaturas >56 °C durante 30 minutos o se esteriliza en autoclave, se destruirá la infectividad (Robinson & Echavarría 2007). Se pueden obtener más de ocho logaritmos de reducción de la potencia del adenovirus tipo 5 tras la exposición de la muestra a temperaturas >70 °C por más de 20 min (Maheshwari, 2004).

Inactivación química: El virus del adenovirus se puede desactivar por contacto con una dilución de lejía 1:5 durante 1 minuto o por contacto con geles de manos a base de alcohol durante 2 minutos (Robinson & Echavarría 2007). El alcohol etílico, a concentraciones del 60 % al 80 %, es un potente agente virucida que inactiva todos los virus lipófilos y muchos virus hidrófilos (por ejemplo, adenovirus).

En el caso del adenovirus, para lograr una breve desinfección, el fabricante recomienda utilizar una solución de Barrydin al 2,0 % durante 60 minutos o a una solución de Barrydin al 4,0 % durante 30 minutos.

Virkon®S es un desinfectante oxidativo comercialmente disponible utilizado frente a una variedad de virus. Se propone Virkon®S líquido al 0,9 % para los procedimientos de descontaminación del adenovirus de tipo 5 con tiempos de contacto superiores a los cinco minutos (McCormick y Maheshwari, 2004).

Tras la reconstitución y administración de ONCOS-102 en un centro del estudio, los materiales utilizados durante el procedimiento deben desecharse de acuerdo con la práctica hospitalaria establecida para la eliminación de desechos biológicos peligrosos, ya sea mediante autoclave y/o incineración, tanto en el centro como fuera del mismo. Todo el equipo no desechable y demás materiales utilizados durante el procedimiento se limpiarán con un desinfectante químico capaz de realizar actividades virucidas durante la duración requerida del contacto o se esterilizarán en autoclave de acuerdo con los procedimientos hospitalarios para la manipulación de materiales potencialmente infecciosos.

10. a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del adenovirus es a través de las vías respiratorias y la vía oro-fecal. La infección también puede propagarse a través de dedos contaminados, vómitos o soluciones oftalmológicas. La transmisión aérea ocurre por medio de aerosoles de gotícula pequeña y, en menor medida, de gotícula grande (Robinson

2007).

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Los brotes de la enfermedad respiratoria asociada al adenovirus son más frecuentes a finales de invierno, primavera y principios de verano. Sin embargo, pueden producirse infecciones por adenovirus durante todo el año. El adenovirus se disemina de forma más efectiva entre multitudes.

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

No procede

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <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

ONCOS-102 es un adenovirus de serotipo 5 (Ad5) que muestra las siguientes modificaciones que lo diferencian del genoma Ad5:

- Una deleción de 24 pares de bases (pb) en la región constante 2 (CR2) del gen E1A. La proteína E1A disfuncional es incapaz de unirse a la proteína celular del retinoblastoma (Rb) para producir la liberación del factor de transcripción E2F1 del Rb, lo que conlleva la necesidad de E2F1 libre para la transcripción génica del adenovirus. El E2F1 libre es abundante en las células cancerosas, donde normalmente se produce una alteración de la vía Rb/p16. De esta forma, los virus con la deleción de los 24 pb en E1A pueden replicarse de forma eficaz en las células cancerosas, pero se debilitan en las células normales. E2F1 activa otros promotores de adenovirus, que finalmente originan a la replicación y la lisis.
- Se ha introducido una deleción de 965 pb en la región temprana 3 (E3) que codifica las proteínas 6.7K y gp19K. Estas proteínas se asocian a la capacidad del adenovirus de evadir los mecanismos de control inmunitario del huésped y sus funciones no son necesarias para la replicación del adenovirus. De hecho, la deleción de gp19K puede potenciar la selectividad tumoral del virus. Normalmente, esta proteína regula a la baja HLA-1 para evitar la detección por parte de las células T. Sin embargo, puesto que muchos tumores avanzados son HLA-1 negativos, esta interacción no es necesaria, ya que las células normales transducidas (no permisivas para la replicación) se eliminan más rápido al ser rápidamente reconocidas por las células T.
- Se ha insertado un transgén que codifica la proteína del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos humanos (GM-CSF) en la región E3,

sustituyendo a 6.7K y gp19K. La transcripción del gen GM-CSF en el ARNm está controlada por el promotor endógeno E3. El GMCSF es un potente activador del sistema inmunitario con propiedades antitumorales establecidas.

- El extremo de la fibra del serotipo 5 se ha sustituido por el extremo de la fibra del serotipo 3, lo que permite que el virus entre en las células a través del receptor del serotipo 3 (expresado frecuentemente en gran cantidad en las células tumorales), en lugar del receptor CAR del serotipo 5 (regulado frecuentemente a la baja en tumores avanzados).

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

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

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

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

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

| | |
|---|-----------------------------|
| a) Tipo de vector | |
| plásmido | <input type="checkbox"/> |
| bacteriófago | <input type="checkbox"/> |
| virus | <input type="checkbox"/> |
| cósmido | <input type="checkbox"/> |
| Elemento de transposición | <input type="checkbox"/> |
| Otros (especifíquense): | |
| b) Identidad del vector: | |
| c) Gama de organismos huéspedes del vector: | |
| d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable | |
| Sí <input type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
| Resistencia a los antibióticos | <input type="checkbox"/> |
| Otras, (especifíquense) | |
| Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: | |
| e) Fragmentos constituyentes del vector | |
| f) Método de introducción del vector en el organismo receptor | |
| i) transformación | <input type="checkbox"/> |

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

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

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

ONCOS-102 se generó y se amplificó utilizando técnicas de preparación de adenovirus estándar. Se construyó un plásmido quimérico de fibra y se recombinó con un vector lanzadera que contenía la delección de 24 pares de bases en E1A dando lugar al plásmido pAd5/3-D24.

Se creó un vector pTHSN de clonación de la región E3 que incluye una delección de 965 pares de bases en la región E3 para introducir el gen GM-CSF humano en el lugar de gp19k y 6.7k de E3 eliminados.

El ADNc de 432 pares de bases que codifica el GM-CSF humano se amplificó e introdujo en pTHSN. Se generó pAd5/3-D24-GM-CSF por recombinación homóloga de pTHSN-GMCSF y pAd5/3-D24 en Escherichia coli, resultando en el plásmido pAd5/3-D24-GM-CSF. pAd5/3-D24-GM-CSF incorporaba el genoma completo de ONCOS-102 en un esqueleto bacteriano, lo que hizo posible la replicación del genoma viral como una parte del plásmido circular en las células bacterianas.

El genoma de ONCOS-102 se liberó del esqueleto bacteriano plásmico pAd5/3-D24-GMCSF por digestión con la enzima de restricción PacI y se transfectó en las células A549 para su posterior amplificación y rescate.

6. Información sobre el fragmento de inserción:

| |
|---|
| a) Composición del fragmento de inserción: Codificación complementaria del ADN para el factor estimulante de las colonias granulocitos-macrófagos (GM-CSF) humanas. |
| b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: Plásmido comercial (Invitrogen) que contiene el ADN complementario que codifica GM-CSF humano. |
| c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG: GM-CSF es un potente inductor de la inmunidad antitumoral. Recluta las células presentadoras de antígenos (CPA) y las células asesinas naturales (NK), y activa y madura las CPA en el lugar tumoral, potenciando así la capacidad de ONCOS-102 para inducir inmunidad celular frente al tumor donde se replica. |

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma

Otros especifíquense):

El ADN vírico se replica en el núcleo de la célula huésped, donde el virus utiliza la maquinaria translacional de las células de la célula huésped. Sin embargo, ONCOS-102 se está replicando únicamente en las células cancerosas deficientes en la vía Rb-p16 que tienen disponible un factor de transcripción E2F libre.

El ADN del vector seguirá siendo episomal y se eliminará cuando la célula se divida o muera.

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

Sí No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

| | |
|------------------------|--|
| Viroide | <input type="checkbox"/> |
| Virus ARN | <input type="checkbox"/> |
| Virus ADN | <input type="checkbox"/> |
| Bacteria | <input type="checkbox"/> |
| Hongo | <input type="checkbox"/> |
| Animal | <input type="checkbox"/> |
| - mamíferos | <input checked="" type="checkbox"/> GM-CSF humano |
| - 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): Primates |
| ii) Familia (plantas): Hominidas |
| iii) Género: Homo |
| iv) Especie: Sapienx |
| v) Subespecie: Homos Sapiens |
| vi) Cepa: |

| |
|--------------------------------------|
| vii) Cultivar/línea de reproducción: |
| viii) Patovar: |
| ix) Nombre vulgar: Humano |

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

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

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

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

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

| | | |
|---|-----------------------------|-------------------------------------|
| Sí <input checked="" type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | No se sabe <input type="checkbox"/> |
| Los adenovirus pueden recombinarse con el ADN del cromosoma y, como resultado, pueden intercambiar material genético con las células huésped. Sin embargo, normalmente el ADN del vector permanece episomal y se elimina cuando la célula se divide o muere. Además, la integración es un evento bastante raro y muchas o la mayoría de las integraciones del ADN de los adenovirus no tienen consecuencias biológicas reconocidas. | | |

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

| | | |
|--|-----------------------------|-------------------------------------|
| a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere? | | |
| Sí <input checked="" type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> | No se sabe <input type="checkbox"/> |

Especifíquese: Los adenovirus de tipo salvaje son estables. Basándose en los estudios de estabilidad, las propiedades de infectividad de ONCOS-102 no disminuyeron tras 16-24 a temperatura ambiente y/o a +5°C al diluirse en NaCl al 0,9 %. A su vez, el ONCOS-102 no reconstituido mantiene la infectividad durante al menos 2 días a +25°C. No obstante, en un estudio de 2 meses, se observó una disminución de la infectividad de ONCOS-102.

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

Sí No No se sabe

Especifíquese: El genoma del virus ONCOS-102 se ha modificado con una deleción de 24 pares de bases en el sitio de unión del retinoblastoma E1A, lo que permite que el virus se replique únicamente en células cancerosas deficientes en la vía Rb-p16. Por lo tanto, no se replica en células sanas.

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

Sí No No se sabe

Especifíquese: Se ha restringido la infectividad en las células normales por una sustitución genética de la región knob del Ad5 con el dominio correspondiente del Ad3, lo que permite que el virus se una y entre a través del receptor del Ad3, que se expresa en gran cantidad en las células tumorales.

La falta de genes víricos 6.7K y gp19K, debido a una deleción de 965 pb en la región E3, retiene a ONCOS-102, que es incapaz de eludir el sistema inmunitario del anfitrión y da lugar a una eliminación más eficaz de la OGM.

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

Sí No No se sabe

Especifíquese: Debido a las restricciones mencionadas anteriormente en las capacidades replicativas del vector en tejidos normales, el potencial de replicación de ONCOS-102 y, por tanto, la patogenicidad de ONCOS-102 es significativamente distinta de la del organismo parental de tipo salvaje, es decir, ONCOS-102 es significativamente menos patogénico.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

La estabilidad genética se ha evaluado mediante el análisis de la enzima de restricción y mediante secuenciación, y ONCOS-102 ha permanecido genéticamente estable durante al menos siete pases.

Además, la expresión y la funcionalidad del medicamento del inserto genético GM-CSF y la especificidad del vector de la infección se han considerado como adecuadas en las pruebas in vitro. Los resultados muestran que la estabilidad genética es comparable de lote a lote.

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

Sí No No se sabe

En caso afirmativo:

a) ¿Para cuál de los organismos humanos

| | | |
|-------------|----------|--------------------------|
| siguientes? | 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

Patogenicidad: En comparación con el adenovirus de tipo salvaje, ONCOS-102 es menos patógeno debido a las restricciones en las capacidades replicativas del vector en tejidos normales.

Inefectividad: Las alteraciones en la infectividad de ONCOS-102 son reducidas en comparación con las del Ad5 de tipo de salvaje y ONCOS-102 solo se replica en células cancerosas.

Toxicogenicidad: Los pentones no se modifican y son tan citotóxicos como en el virus parental.

Las proteínas virales tempranas contrarrestan el factor de necrosis tumoral y la apoptosis como en el tipo salvaje.

Virulencia: Se ha reducido la capacidad de causar enfermedades.

La gama de organismos huéspedes, incluidos los organismos no diana, no ha cambiado.

Posible activación de los virus latentes (provirus): ONCOS-102 se replica solo en células tumorales. Se administra por vía intratumoral, lo que reduce la posibilidad de infecciones asintomáticas persistentes en las amígdalas, las adenoides y el intestino. Alcanza los tejidos a través de la circulación, pero no es capaz de replicarse de forma eficaz en células normales.

La capacidad para colonizar otros organismos no ha cambiado: No hay colonización.

ONCOS-102 es inmunogénico e induce una respuesta inflamatoria innata y aguda y respuestas inmunitarias adaptativas que provocan la destrucción de células transducidas.

Aspectos a tener en cuenta respecto a la salud en seres humanos, animales y plantas:

Los posibles efectos directos en la salud humana se limitan a la transmisión de ONCOS-102 a un destinatario humano no diana. Se espera que los posibles efectos adversos sean los mismos que los que se esperan en los pacientes que reciben el tratamiento, aunque de intensidad mucho menor.

Los posibles efectos indirectos de la liberación se limitan a las consecuencias de la diseminación de ONCOS-102 desde el lugar de la inyección, la diseminación o la liberación de adenovirus de tipo salvaje mediante la contaminación de un producto durante el proceso de fabricación o durante la recombinación en las células del destinatario, lo que es muy poco probable que ocurra.

Es poco probable que ONCOS-102 suponga un riesgo para la salud y la seguridad humanas.

Los posibles efectos en el medio ambiente podrían ser la diseminación de ONCOS-

102 al medio ambiente o la transferencia de material genético insertado a un virus animal. Se prevé que la diseminación del virus o de posibles recombinantes tan solo sea infecciosa para los humanos. Por lo tanto, las consecuencias de la exposición al medio ambiente son menores.

La probabilidad de que ONCOS-102 constituya un peligro para el medio ambiente es muy escasa.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

La presencia de partículas virales infecciosas en una muestra puede determinarse mediante un método de cultivo de virus cualitativo común. La presencia de virus conlleva cambios morfológicos en las células A549 permisivas para adenovirus (carcinoma pulmonar humano), que se pueden detectar con microscopio. Los cambios debidos a la infección se clasifican como efectos citopáticos (ECP) y, en caso de ECP, la muestra se considera positiva.

El método no es específico para ONCOS-102. En su lugar, detecta todos los serotipos de adenovirus de la muestra y el resultado positivo se debe verificar identificando ONCOS-102 por RCP cuantitativa. Sin embargo, el método es capaz de detectar cantidades muy bajas de partículas infecciosas en una muestra, es científicamente sólido y adecuado para este propósito.

Se puede utilizar la RCP cuantitativa específica y altamente sensible para identificar las modificaciones específicas de ONCOS-102 a partir de las muestras en hisopos.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Métodos específicos de RCP o RCP cuantitativa, detección de anticuerpos, análisis de enzimas de restricción y secuenciación del ADN

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de la liberación es continuar con el estudio de la seguridad, tolerabilidad, farmacocinética, inmunogenicidad y actividad antitumoral de ONCOS-102 como monoterapia y en una nueva combinación con balstilimab, un anticuerpo anti-PD-1, en pacientes con melanoma cutáneo irresecable o metastásico resistente al tratamiento anti-PD-(L)1. Se estudiará en un ensayo clínico de fase II, que es un estudio abierto de exploración de dosis y expansión múltiple en dos partes que se llevará a cabo en varios centros de varios países.

El estudio consta de dos partes: una parte de preinclusión de exploración de dosis (parte 1) y una parte de expansión múltiple (parte 2). Se evaluarán los datos de seguridad y eficacia de la parte 1 y la parte 2.

El objetivo principal de la parte 1 del ensayo es evaluar la seguridad y la tolerabilidad de ONCOS-102 en monoterapia a una dosis de 1×10^{12} partículas víricas (PV; en la cohorte 1), la seguridad y la tolerabilidad de ONCOS-102 a una dosis de 3×10^{11} de PV en combinación con balstilimab (en la cohorte 2), la seguridad y la tolerabilidad de ONCOS-102 a una dosis de 1×10^{12} de PV en combinación con balstilimab si se aplica a la parte 2 de ONCOS-102RP2D. El objetivo principal de la parte 2 del ensayo es evaluar la tasa de respuesta objetiva

(TRO; según la evaluación del investigador utilizando los criterios RECIST v1.1) en la RP2D de ONCOS-102 en ambas cohortes. En este estudio está previsto reclutar a un máximo de 63 pacientes evaluables.

En la parte 1 del estudio, se inscribirá a 3 pacientes en cada una de las cohortes 1 (nivel de dosis de ONCOS-102 = 1×10^{12} PV) y 2 (nivel de dosis de ONCOS-102 = 3×10^{11} PV). Una vez que 3 pacientes de cada cohorte hayan recibido las dosis durante un mínimo de 2 ciclos, un Comité de revisión de seguridad (CRS) llevará a cabo una evaluación de la toxicidad limitante de la dosis (TLD) que guiará cualquier escalada, reducción o mantenimiento de los niveles de la dosis de ONCOS-102 ya existentes. Si la dosis de ONCOS-102 en monoterapia se reduce a 3×10^{11} PV, se reclutará a otros 10 pacientes en la cohorte 1 (disminución del nivel de dosis) y se reclutará a otros 7 pacientes en la cohorte 2 (mantenimiento del nivel de dosis). Si la dosis de ONCOS-102 en monoterapia se mantiene a 1×10^{12} PV, se reclutará a otros 7 pacientes en la cohorte 1 (mantenimiento del nivel de la dosis) y se reclutará a otros 10 pacientes en la cohorte 2 (escalada del nivel de la dosis). En la cohorte 2, se aplicarán las reglas de diseño 3+3 para proceder con una escalada del nivel de la dosis.

En la parte 2 del estudio, la cohorte 1 se ampliará hasta incluir a otros 10 pacientes y conseguir un total de 20 pacientes con el nivel de dosis seleccionado. Se aplicará un marco de decisión de Simon en dos etapas (minimax) a la Cohorte 2 para evaluar el tratamiento combinado en ONCOS-102 RP2D. La cohorte 2 se ampliará inicialmente hasta incluir a 8-10 pacientes adicionales y conseguir un total de 18 pacientes (estadio 1 de Simon); si se cumplen los criterios de eficacia, a esto le seguirá la incorporación de 19 pacientes adicionales que darán un total de 37 pacientes (estadio 2 de Simon).

ONCOS-102 está indicado para la administración antitumoral; el nivel de inyectabilidad de cada tumor que deba recibir una inyección se determinará mediante visualización directa. La inyección debe administrarla un investigador debidamente formado o una persona designada con experiencia en la aplicación de fármacos IT en un centro del estudio aprobado.

Durante la administración y preparación del medicamento se seguirán las directrices sobre manipulación, equipo de protección personal, derrames accidentales y desechos.

En caso de que se produzca cualquier incidente o accidente, se informará a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de Organismos Modificados Genéticamente (CIOMG) de acuerdo con las obligaciones del promotor. El centro en el que se realiza el ensayo clínico también recibirá un formulario independiente para notificar los accidentes.

Las precauciones de uso se proporcionan en el manual farmacéutico que se envía al centro del estudio.

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 checked="" type="checkbox"/> | No <input type="checkbox"/> |
|--|-----------------------------|

En caso afirmativo, especifíquese: ONCOS-102 se administrará en una dependencia del centro clínico de acceso restringido.

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

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

ONCOS-102 se administrará en los siguientes centros del estudio clínico en España.

Direcciones de los centros de estudio:

1. Hospital Universitario Virgen Macarena, Avenida Doctor Fedriani, 3, 41009 Sevilla, España.
2. Hospital Vall d'Hebron, Vall d'Hebron Instituto de Oncología, Passeig de la Vall d'Hebron, 119-129, 08035 Barcelona, España.
3. Clínica Universidad de Navarra, C. del Marquesado de Santa Marta, 1, 28027 Madrid, España.

b) Área del lugar (m²):

i) lugar real de la liberación (m²):

ii) área de liberación más amplia (m²):

La manipulación de ONCOS-102 se llevará a cabo en la farmacia del hospital. Las instalaciones están aprobadas para el uso de organismos de nivel de contención 2. El manual farmacéutico indica que las personas que participan en la preparación y administración de la dosis deben utilizar las precauciones universales y el equipo de protección personal (EPP) correspondiente. La preparación de la dosis se debe realizar en una cabina de seguridad biológica (CSB) con un dispositivo de transferencia de sistema cerrado (CSTD) para reducir los riesgos de la posibilidad de generar e inhalar aerosoles.

La farmacia, así como las salas de tratamiento, deben tener acceso restringido, lo que significa que el acceso está controlado y limitado al personal autorizado del hospital formado en las medidas de control de infecciones. Se deberá colocar el pictograma de peligro biológico en cada puerta de acceso. El símbolo de peligro biológico se puede retirar de la puerta de la sala de tratamiento tras dar de alta al paciente.

Las superficies, las habitaciones de hospital, las consultas en las que se atiende a los pacientes y los dispositivos de los equipos utilizados para atender a los pacientes se deben limpiar de forma rutinaria con un desinfectante para uso hospitalario. Tras el alta hospitalaria del paciente, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se lavarán con agua caliente y detergente >56 °C durante 30 minutos o 70 °C durante 20 minutos. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

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

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: no procede

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

El número máximo de pacientes para el estudio es de 63. Cada paciente recibirá un máximo de 37 dosis durante el periodo de tratamiento de 24 meses que contendrá 3 partículas del virus $\times 10^{11}$ o 1 dosis de $10^{12}/2,5$ ml. ONCOS-102 está formulado como un concentrado a una concentración de 5×10^{11} partículas virales (PV) por mililitro (ml). El volumen de cada vial es de 0,8 ml. Antes de la administración el medicamento se almacena en un congelador con la temperatura controlada a $-20 \pm 5^\circ\text{C}$. Se descongelarán uno o tres viales de ONCOS-102 por dosis. La cantidad máxima de ONCOS-102 sin diluir en todos los centros de este estudio será de 4,66 L, en cuyo caso la cantidad total de partículas víricas para la liberación es de $2,3 \times 10^{15}$.

b. Duración de la operación: desde el 01 de abril de 2023 al 30 de junio de 2027

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

ONCOS-102 se libera exclusivamente para uso en ensayos clínicos. Los virus están formulados en una solución que se presenta en viales de vidrio de 2 ml, herméticamente cerrados con un tapón de goma y una tapa de aluminio. Se pega una primera etiqueta a cada vial. Antes de la administración, el producto se conserva en un congelador a temperatura controlada $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ en la farmacia o en otro lugar seguro adecuado.

La administración de la inyección es responsabilidad del investigador o profesional médico designado con formación y experiencia en la administración de fármacos por vía intratumoral (IT) de acuerdo con el protocolo clínico y respetando la buena práctica clínica. El producto debe prepararse en condiciones asépticas que cumplan con las soluciones inyectables. La preparación de la dosis se realiza en una cabina de bioseguridad con un CSTD.

La CSB se descontaminará antes y después de la manipulación, primero con un agente que desactive el virus y después con EtOH al 70 %.

Todo el personal implicado en la manipulación de ONCOS-102 o de cualquier material potencialmente contaminado debe llevar equipo de protección individual (EPP). Todos los traslados deben realizarse utilizando una caja de transporte de plástico sellada marcada con el pictograma de peligro biológico y un kit de descontaminación por si se produjera un derrame durante el transporte. El personal del centro seguirá la política estándar del hospital recomendada para la manipulación de vacunas con virus vivos.

En caso de derrame accidental, se aislará el área del derrame y se dejará vacía para que se depositen los aerosoles. El personal implicado en la limpieza del vertido debe llevar EPI. Se pone con cuidado papel absorbente o paños sobre el derrame empezando desde los bordes. El derrame se debe absorber con papel absorbente y después se debe aplicar un desinfectante activo con actividad virucida. El contacto

con el desinfectante vendrá pautado por las directrices del fabricante.

Todo el personal que interviene en la manipulación del medicamento debe ser informado de que en caso de:

- Salpicadura en los ojos: se debe aclarar los ojos con agua limpia o una solución de suero fisiológico (NaCl 0,9 %)
- Salpicadura en piel sana: se debe lavar la zona con un pañuelo humedecido en desinfectante virucida y enjuagar con agua limpia durante al menos 15 minutos. El pañuelo contaminado debe tratarse como material infeccioso.
- Cortes o punciones: se debe dejar que la herida sangre antes de enjuagarla bajo un chorro de agua limpia y preferiblemente estéril. A continuación, se debe cubrir la zona de la lesión con un vendaje de gasa estéril que se desechará de acuerdo con el procedimiento habitual del hospital una vez que se retire.

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

No procede

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

Se ha tratado un total de 236 pacientes con ONCOS-102. El número de participantes incluye a participantes de tres estudios patrocinados por Targovax (ONCOS C1, ONCOS C719 y ONCOS C824), un programa de acceso a tratamientos avanzados (regulado por el CE/1394/2007) de uso compasivo, así como dos estudios patrocinados por colaboradores (LUD2015-008 and SP015).

Los estudios específicos de Targovax se resumen a continuación:

- ONCOS C1: ensayo en fase I con 12 pacientes con diversos tumores sólidos refractarios al tratamiento, incluidos en un diseño de escalada de tres dosis.

No se observaron toxicidades limitantes de la dosis (DLT) y no se estableció una dosis máxima tolerada (DMT). El perfil de seguridad fue aceptable, y los datos agregados favorecieron la progresión del nivel de dosis más alto para estudios posteriores.

- ONCOS C719: un ensayo aleatorizado en fase II b de 31 pacientes con mesotelioma pleural maligno (MPM) sin tratamiento previo o con tratamiento previo con quimioterapia. En este ensayo, los pacientes recibieron pemetrexed/cisplatino como tratamiento estándar (SoC) en combinación con ONCOS-102 (n = 20) o el tratamiento estándar en monoterapia (n = 11).

En el análisis final de la SG después de los 30 meses de seguimiento, las tasas de SG para de la mayoría de la población con intención de tratarse fueron del 34,3 % y el 18,2 % dentro del grupo experimental y el grupo de control respectivamente. La mediana de la SG (mSG)

fue de 16,6 meses (IC 5,03, 30,42) y 18,3 meses (IC 3,12, 28,85) en el grupo experimental y el grupo de control, respectivamente. El efecto de ONCOS-102 parecía limitarse al subconjunto de pacientes sin tratamiento previo con quimioterapia, en el que la tasa de supervivencia a los 30 meses y la SGM fueron del 34,1 % y 20,3 meses (IC 6,34, NP), respectivamente, en el grupo experimental, mientras que en el grupo de control se observaron el 0 % y 13,5 meses (IC 3,12, 22,41), respectivamente. Se demostró la activación inmunológica asociada al ONCOS-102 en el tumor, correlacionada con los beneficios clínicos.

La combinación de ONCOS-102 con el tratamiento estándar de quimioterapia mostró un perfil de seguridad comparable al observado en los pacientes que solo recibieron quimioterapia (Ponce et al, 2022).

- ONCOS C824: un ensayo clínico preliminar en fase I con una duración de 27 semanas y un solo grupo de 21 pacientes con melanoma cutáneo maligno resistente a anti-PD-1. En este ensayo, se exploraron dos pautas posológicas; en la parte 1, los pacientes recibieron ONCOS-102 (3×10^{11} PV) antes de la reintroducción del anticuerpo anti-PD-1 (pembrolizumab 2 mg/kg o una dosis fija de 200 mg de acuerdo con la práctica institucional) desde la semana 3 y en la parte 2 se administró ONCOS-102 antes y durante la administración del anticuerpo anti-PD-1 (pembrolizumab) desde la semana 3. En la parte 1 del ensayo, 3 de cada 8 (37,5 %) pacientes tuvieron una respuesta clínica (respuesta completa (RC) o respuesta parcial (RP) de acuerdo con los criterios RECIST 1.1) y en la parte 2, 4 de cada 12 (33,3 %) tuvieron una respuesta. La duración del estudio en este ensayo preliminar fue de 27 semanas, por lo que no se evaluó la durabilidad de la respuesta más allá de las 24 semanas.

En este estudio se observó activación inmunológica en los tumores, que se correlacionó con el beneficio clínico; incluidas mayores frecuencias de linfocitos T CD8+ o CD4+, que fueron más prominentes en las muestras tumorales de pacientes con control de la enfermedad (RC, RP y enfermedad estable [EE]) en comparación con los pacientes con EE progresiva.

La combinación de ONCOS-102 y pembrolizumab fue bien tolerada sin TLD y sin problemas de seguridad que pudieran afectar al desarrollo posterior de esta combinación de tratamiento (Wiklund et al., 2022).

Se dispone de datos de diseminación de 4 ensayos y se ha analizado la presencia de partículas víricas infecciosas de ONCOS-102 en los siguientes tipos de muestras: orina (35 pacientes), frotis bucales/saliva (32 pacientes), heces (16 pacientes) y frotis en el lugar de la inyección (18 pacientes). Además, se analizó la presencia de genomas víricos en muestras de sangre. La dosis ha sido la misma en los tres ensayos recientes (C719, C824 y SP015), es decir, 3×10^{11} PV por administración de la dosis, mientras que la administración en el ensayo ONCOS C1 difirió tanto en relación con la vía de administración (iv. e i.t.) como en la concentración (3×10^{10} PV, 1×10^{11} o 3×10^{11} PV). Las muestras de diseminación se analizan

utilizando dos métodos diferentes: 1) cultivo celular vírico para investigar si hay partículas víricas infecciosas en la muestra y 2) RCPC para investigar si hay ADN de ONCOS-102 en las muestras. Ambas pruebas deben ser positivas (entonces, el resultado final notificado es positivo) para llegar a la conclusión que hay partículas víricas infecciosas de ONCOS-102 en la muestra de diseminación.

En general, los datos de los 4 estudios muestran que la diseminación de partículas víricas infecciosas de ONCOS-102 se ha detectado en una minoría de pacientes en pocas ocasiones. Existe un riesgo teórico de propagación del ONCOS-102 al medio ambiente por parte de los pacientes que están recibiendo tratamiento. Solo se ha observado que el paciente impar en algunos puntos temporales durante la participación en el estudio disemina el virus ONCOS-102.

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

1. Nombre del organismo diana (si procede)

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

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

La muerte oncolítica de las células cancerosas causada por ONCOS-102 conduce a una liberación significativa de epítomos tumorales para su muestreo por parte de las células presentadoras de antígenos y representa una potente señal de peligro coestimuladora que causa la activación del sistema inmunitario. Se ha demostrado in vitro que ONCOS-102 induce la muerte celular inmunogénica (ICD), medida por la exposición de calreticulina en la superficie celular y la liberación de ATP y HMGB1 de las células cancerosas muertas (Liikanen et al, 2013). También se ha sugerido que la ICD es un paso potencialmente crucial entre las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas y podría ser parcialmente responsable de la eficacia de algunos fármacos quimioterapéuticos, incluidas las antraciclinas (Obeid et al, 2007; Kepp et al, 2011). Por lo tanto, la oncolisis en sí puede dar lugar a una inmunidad antitumoral, y la combinación con medicamentos quimioterapéuticos podría potenciar aún más la inducción de una inmunidad tumoral específica.

El objetivo de agrupar los adenovirus oncolíticos con transgenes inmunomoduladores es mejorar su actividad antineoplásica. En un estudio de fase I reciente, la administración local de ONCOS 102 ha demostrado inducir la infiltración de células inmunitarias innatas y linfocitos T CD8+ en el área tumoral.

Al mismo tiempo, se detectó la inducción de células T CD8+ específicas del tumor en el análisis ELISPOT con interferón-gamma de células mononucleares en sangre periférica (PBMC) (Ranki, 2014; Vassilev, 2015). El aumento de los linfocitos T detectado también se ha observado en otros estudios (ONCOS C719 y C824). En C719, la infiltración de linfocitos T (CD4+ y CD8+) aumentó notablemente desde el inicio hasta el día 36 en los pacientes que recibieron inyección intratumoral + quimioterapia de ONCOS-102, sin embargo, se observó una tendencia descendente en los pacientes sometidos solo a quimioterapia. De forma similar, en el estudio ONCOS C824, se observó un aumento de los linfocitos infiltrantes de tumor (LIT) desde el inicio hasta la semana 3 en todos los pacientes. Sin embargo, en la semana 9, los pacientes con resultados clínicos positivos (EE + RP + RC, n = 11) mostraron niveles elevados continuos de infiltración de células inmunitarias, mientras que la firma de células inmunitarias en el tumor disminuyó drásticamente en los pacientes con progresión de la enfermedad (PE, n = 10).

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

Los adenovirus humanos se replican solo en células humanas. La recombinación con otros organismos es muy poco probable, ya que esto requeriría la replicación simultánea de adenovirus de diferentes especies en una misma célula.

Si una persona sana se expusiera al virus, sería poco probable que le produjera una infección debido a la naturaleza cancerosa específica de ONCOS-102. Sin embargo, incluso si se produjera la infección, los síntomas serían leves, principalmente síntomas gripales o gastrointestinales leves.

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

Los adenovirus humanos se replican solo en células humanas. Se prevé que ONCOS-102 no interactúe con otros organismos debido a las condiciones de la liberación propuesta. ONCOS-102 se limitará al centro del hospital, la sala de tratamiento, la farmacia, el laboratorio clínico y el área de residuos biológicamente peligrosos.

Se podría originar una posible transmisión secundaria de ONCOS-102 la dispersión. Los pacientes tratados pueden dispersar ONCOS-102 a aguas residuales o a su entorno doméstico. Sin embargo, sería poco probable que se diera esta dispersión de ONCOS-102, ya que apenas aparecieron casos en los estudios clínicos anteriores. Se prevé que la diseminación del virus o de posibles recombinantes tan solo sea infecciosa para los humanos.

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

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

| |
|---|
| <p>a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:</p> <p>Existe una mínima posibilidad de transferencia genética a otras especies mediante la liberación del OGM propuesta. El OGM se administrará a los pacientes en quirófanos por lo que es poco probable que entre en contacto con otras especies animales.</p> <p>La posibilidad de intercambio genético con otros adenovirus humanos de tipo C es mínima, ya que son endémicos en los seres humanos. Se ha descubierto que la recombinación intercambia fragmentos del genoma dentro de las especies de adenovirus, pero no entre especies.</p> <p>La oportunidad de recombinación genética con adenovirus animales es probablemente baja, ya que los eventos de recombinación son raros incluso en el entorno in vitro.</p> |
| <p>b) De otros organismos al OMG: Muy poco probable</p> |
| <p>c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: ONCOS-102 se ha diseñado para que cualquier posible resultado de una recombinación genética con un virus de tipo salvaje (aunque sea poco probable) sea más seguro o igual o igual de seguro que el virus de tipo salvaje. Por ejemplo, el inserto (GM-CSF) hace que el sistema inmunitario detecte más fácilmente ONCOS-102, produciendo por lo tanto un aclaramiento eficaz del virus recombinado en los seres humanos.</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.)

| |
|---|
| No hay datos disponibles sobre el comportamiento y las características de ONCOS-102 en los ambientes mencionados. |
|---|

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

No procede

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

La supervisión de los efectos directos e indirectos de los OMG en los pacientes se llevará a cabo mediante exploraciones físicas, notificación de acontecimientos adversos y evaluaciones clínicas de laboratorio durante todo el estudio clínico.

Además, para el análisis de diseminación de la parte 2, se puede determinar la presencia de partículas virales infecciosas en una muestra utilizando un método cualitativo habitual de cultivo de virus.

El método no es específico para ONCOS-102. En su lugar, detecta todos los serotipos de adenovirus de la muestra y los resultados positivos se deben verificar mediante la identificación de ONCOS-102 por RCP cuantitativa u otros métodos. Sin embargo, el método es científicamente sólido y adecuado a estos efectos.

Se puede utilizar una RCP cuantitativa sensible y altamente específica para identificar las modificaciones específicas de ONCOS-102 a partir de las muestras en hisopos.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No procede

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

Se espera que ONCOS-102 no se integre en el genoma anfitrión. El ADN del vector seguirá siendo episomal y se eliminará cuando la célula se divida o muera. Además, ONCOS-102 se replica en las células cancerosas humanas, pero se ve atenuado en las células normales. Sin embargo, el genoma de ONCOS-102 se puede detectar se puede detectar con métodos de RCP o RCP cuantitativa a partir de otros organismos.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede: La manipulación de ONCOS-102 se llevará a cabo en la farmacia del hospital y se administrará a los pacientes a través de inyecciones intratumorales en una habitación independiente con el símbolo de materiales biológicos peligrosos en la puerta.

5. Duración del seguimiento

Se realizarán evaluaciones de seguridad a lo largo de toda la participación del paciente en el ensayo clínico. Se evaluará la seguridad mediante la recopilación de los acontecimientos adversos (AA) y la monitorización formal de los valores de laboratorio previamente especificados, constantes vitales y otras variables relevantes.

La monitorización de los efectos directos e indirectos de ONCOS-102 en los sujetos se llevará a cabo mediante las evaluaciones clínicas definidas en el protocolo del ensayo. Los investigadores del estudio supervisarán a los pacientes durante todo el tratamiento.

Se utilizará una organización de investigación por contrato (CRO) independiente

para las actividades de supervisión del estudio y de gestión de datos. Cualquier acontecimiento adverso grave será notificado dentro de los plazos establecidos al promotor, y según proceda, a cada una de las autoridades reguladoras nacionales que dicte la legislación farmacéutica.

6. Frecuencia del seguimiento

Las muestras para diseminación viral se recogerán en la parte 2 del estudio después de que se haya determinado la dosis recomendada para la fase 2. Las muestras de diseminación de los pacientes (hisopos del lugar de la inyección para todos los pacientes y muestras de semen para los pacientes hombre) se tomarán los días 1, 4, 8, 22 y durante la semana 7. Las pruebas de seguridad incluirán pruebas de RCP cuantitativa y de infectividad del adenovirus para detectar la diseminación del vector.

Además, se recogerá sangre completa de todos los pacientes en el día 1, 4, 8, 15, 22, en la semana 7, cada 12 semanas a partir de la semana 13 hasta el final del tratamiento y en la visita final del tratamiento para detectar el genoma del virus mediante análisis cuantitativo de RCP (para la parte 2 se omite la obtención de muestras los días 4, 8 y 15). Todas las muestras de sangre se recogerán como muestras previas la dosis, antes de ningún tratamiento programado para el día especificado y 1 hora después de la inyección.

Todos los AA que se produzcan después de la primera dosis del tratamiento del estudio y hasta 90 días después de la última administración del tratamiento, o hasta el inicio de un nuevo tratamiento antineoplásico, lo que ocurra primero, los notificará el paciente (o, cuando proceda, el cuidador, el sustituto o el representante legal del paciente).

-Variables de seguridad del laboratorio

Todas las muestras de sangre y orina para los análisis clínicos de seguridad deben obtenerse antes de la dosis. Se puede realizar una monitorización clínica adicional con muestras específicas de sangre y orina si es necesario, de acuerdo con la práctica local. Se extraerán muestras de sangre para determinar la bioquímica, hematología y función tiroidea de todos los pacientes del estudio en los puntos temporales previamente especificados. El estado de coagulación, la hematología y bioquímica adicionales se realizarán a discreción del investigador, según corresponda para el tratamiento del paciente. Se solicitarán muestras de orina a todos los pacientes del estudio según esté clínicamente indicado.

Se medirán y registrarán las constantes vitales (pulso, frecuencia respiratoria, tensión arterial y temperatura) antes de la administración del tratamiento. Se supervisará la tensión arterial, el pulso, la frecuencia respiratoria y la temperatura durante 1 hora \pm 30 minutos después de la inyección de ONCOS-102 y, de nuevo (en la cohorte 2), 1 hora \pm 30 minutos después de la infusión de balstilimab, además de antes del alta hospitalaria del paciente, de 2 a 4 horas después de la recepción de la dosis. Se podrá realizar otra supervisión si está clínicamente indicado.

Se realizará una exploración física basal (con medición de la altura) a todos los pacientes y una exploración física dirigida a partir de entonces, según corresponda. Se tomará un electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones por triplicado de todos los pacientes durante la selección, 2-6 horas después de la dosis de ONCOS-102 el día 1 del ciclo 1 y el día 22. Se podrán realizar y registrar más ECG si es

clínicamente relevante de acuerdo con la evaluación del investigador.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

ONCOS-102 se manipulará principalmente en un laboratorio. Las superficies del laboratorio se limpian frotando con un desinfectante de grado hospitalario.

Tras el alta hospitalaria del paciente, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Si es posible, los equipos utilizados para atender a los pacientes se pueden limpiar con solución de Barrydin u otro agente de inactivación viral. También se puede utilizar un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se lavarán con agua caliente y detergente >56 °C durante 30 minutos o 70 °C durante 20 minutos. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los virus que no se hayan utilizado permanecerán dentro del conjunto de administración cerrado y se eliminarán de acuerdo con la práctica hospitalaria establecida para la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos cortantes y punzantes en el centro del estudio.

Durante el transcurso del ensayo clínico, se destruirán en el centro, siguiendo las prácticas del hospital para agentes de riesgo del grupo 2 o las directrices recibidas, tanto los viales utilizados como los sobrantes sin utilizar. Los viales sin abrir que no se hayan utilizado también se pueden devolver al fabricante bajo el control del promotor.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los tipos de residuos biológicos peligrosos son: objetos punzantes y desechables.

Tanto en la farmacia/laboratorio como en la sala de tratamiento se debe contar con recipientes y bolsas y un recipiente para objetos cortantes y punzantes resistente a la perforación.

El vial de ONCOS-102 utilizado y los componentes del CSTD se colocan en un recipiente para desechos biológicos claramente marcado y posteriormente se desechan. Los demás materiales desechables, incluidos los desechos plásticos y de papel (tapas de los materiales desechables, paños utilizados y EPI) se guardan en una bolsa para materiales biológicos potencialmente peligrosos etiquetada antes de esterilizarse en autoclave y/o incinerarse.

Tras la administración, el conjunto de administración completo se introduce en un recipiente para objetos cortantes y punzantes resistente a la perforación y posteriormente se elimina de acuerdo con la práctica hospitalaria establecida en el centro del estudio para objetos cortantes y punzantes biológicamente peligrosos.

Al utilizar un dispositivo de transferencia de sistema cerrado para la reconstitución, se minimiza la cantidad de desechos y de procedimientos de manipulación de

desechos. Además, se minimiza el riesgo de generar e inhalar aerosoles.

La cantidad de desechos estimada por tratamiento no es grande: Un conjunto de reconstitución/administración, los EPI utilizados, los paños y las tapas de los materiales desechables, no llenarán los recipientes de desechos. Si es posible, se pueden recoger los desechos de varios tratamientos. En las instalaciones del centro del estudio, esto implicará la contención temporal en contenedores de objetos punzantes o bolsas para residuos biológicos peligrosos claramente marcadas antes de la esterilización en autoclave y/o la incineración, tanto dentro como fuera del centro, según los procedimientos del hospital para la manipulación de materiales potencialmente infecciosos.

Todo el equipo utilizado durante el procedimiento se lavará utilizando un desinfectante químico con capacidad virucida durante el tiempo de contacto necesario (especificado por el fabricante). Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se lavarán con agua caliente y detergente >56 °C durante 30 minutos o 70 °C durante 20 minutos. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

3. (b) Tratamiento de residuos

Los centros médicos seguirán las prácticas de bioseguridad universales al manipular medicamentos inyectables y desechos médicos. Normalmente, los procedimientos normalizados de trabajo para los desechos en las instalaciones médicas serán acordes a las directrices proporcionadas en el Manual de bioseguridad de laboratorio de la OMS, 4.^a ed. (2020) y los monográficos asociados, tal y como se indica a continuación:

“Objetos punzantes” contaminados (infecciosos)

Las agujas hipodérmicas no se deben volver a tapar, cortar ni retirar de las jeringas desechables después de utilizarlas. Se debe colocar todo el conjunto en un recipiente de eliminación específico para objetos cortantes y punzantes. Las jeringuillas desechables, utilizadas solas o con agujas, deben colocarse en recipientes para objetos punzocortantes e incinerarse, previa autoclave si es necesario. Los recipientes de eliminación de objetos cortantes y punzantes serán resistentes a la perforación y no se llenarán por completo. Cuando tengan tres cuartas partes llenas, se colocarán en contenedores de “desechos contagiosos” y se incinerarán, esterilizándolos primero en autoclave si la práctica del laboratorio lo requiere. Los recipientes para objetos punzantes no se deben desechar en vertederos.

Para descontaminar materiales contaminados (potencialmente infecciosos):

Aparte de los objetos cortopunzantes mencionados más arriba, todo el material contaminado (potencialmente infeccioso) debe ser introducido en recipientes impermeables (por ejemplo, en bolsas de plástico para materiales biológicos potencialmente peligrosos que resistan el tratamiento en autoclave) y tratado en autoclave antes de proceder a su eliminación. Después de la esterilización en autoclave, el material puede colocarse en recipientes de transferencia para transportarlo al incinerador. El material procedente de actividades relacionadas con la atención sanitaria no debe desecharse en vertederos, ni siquiera después de haber sido descontaminado. Si se dispone de un incinerador en el laboratorio, no es

necesario el tratamiento en autoclave: el material contaminado se coloca en recipientes especialmente marcados (por ejemplo, bolsas para materiales biológicos potencialmente peligrosos) y se transporta directamente al incinerador.

No deben utilizarse recipientes reutilizables para el transporte.

Otros materiales contaminados (potencialmente infecciosos):

La cabina de bioseguridad se debe descontaminar primero con un desinfectante químico con actividad virucida, y después con etanol al 70 % tras la preparación y administración de la dosis de ONCOS-102. Las superficies de trabajo de la farmacia se deben descontaminar con un desinfectante químico con actividad virucida tras la preparación y la administración de la dosis de ONCOS-102. Cuando se administre el medicamento o cuando se produzcan derrames y roturas accidentales, se deben seguir las precauciones descritas anteriormente.

Las superficies, las habitaciones de hospital, las consultas en las que se atiende a los pacientes y los dispositivos de los equipos utilizados para atender a los pacientes se deben limpiar de forma rutinaria con un desinfectante para uso hospitalario. Tras el alta hospitalaria del paciente, se deben limpiar todas las superficies de la habitación y del baño con un desinfectante de grado hospitalario.

Los artículos como platos, utensilios, textiles y ropa se lavarán con agua caliente y detergente >56 °C durante 30 minutos o 70 °C durante 20 minutos. El personal con formación en la eliminación de desechos biológicos potencialmente peligrosos se encargará de que todos los desechos se esterilicen en autoclave, incineren o traten con un agente de inactivación viral.

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

Accidentes oculares relacionados con ONCOS-102

En caso de exposición accidental durante el manejo por una salpicadura en los ojos, retire los guantes protectores que podrían estar contaminados y enjuague los ojos con un lavado ocular o agua limpia durante al menos 15 minutos. Consulte con un profesional sanitario para detectar signos de infección sistémica (principalmente síntomas gastrointestinales leves o similares a los de la gripe, fiebre) o local (por ejemplo, dolor, enrojecimiento e hinchazón).

-Cortes y heridas por pinchazos

Se ha demostrado que el uso seguro de agujas evita heridas y cortes por pinchazos. Los procedimientos normalizados de trabajo para la eliminación de agujas contaminadas en las instalaciones médicas serán acordes a las directrices proporcionadas en el Manual de bioseguridad de laboratorio de la OMS, 4.^a ed. (2020).

En caso de exposición por un pinchazo de la aguja, retire los guantes protectores y compruebe si se ha perforado la piel. Limpie el sitio minuciosamente con un desinfectante virucida, como una solución de Barrydin al 2 %. En caso de ver piel abierta, limpie el lugar además con solución antiséptica y una almohadilla de algodón estéril. Consulte con un profesional sanitario para detectar signos de infección sistémica (principalmente síntomas gastrointestinales leves o similares a los de la gripe, fiebre) o local (por ejemplo, dolor, enrojecimiento e hinchazón).

-Salpicaduras en la piel o membranas mucosas

Todo el personal que manipule el virus o material contaminado con ONCOS-102 debe seguir las precauciones de seguridad; deben llevar bata o bata de laboratorio, guantes, gafas de seguridad o protector facial y manguitos. Ningún miembro del personal del estudio (por ejemplo, farmacéuticos, radiólogos, enfermeros) con heridas abiertas en la piel debe entrar en contacto directo con el ONCOS-102.

En caso de exposición a una piel sana, limpie la zona con un pañuelo humedecido con desinfectante virucida y enjuague con agua limpia durante al menos 15 minutos. En caso de exposición a membranas mucosas, enjuague la zona con agua limpia durante al menos 15 minutos. Consulte con un profesional sanitario para detectar signos de infección sistémica (principalmente síntomas gastrointestinales leves o similares a los de la gripe, fiebre) o local (por ejemplo, dolor, enrojecimiento e hinchazón).

En caso de salpicaduras en la ropa, retire la ropa contaminada: pulverice con desinfectante virucida para inactivar el ONCOS-102. Coloque la ropa desechable y el equipo de protección en los desechos biológicos peligrosos. Lave adecuadamente las demás prendas a la temperatura de $>56^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos (Robinson y Echavarría 2007) o a 70°C durante 20 minutos (Maheshwari, 2004).

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

En caso de derrames en las superficies, compruebe que no haya personas externas expuestas a la solución. Si es necesario, avise a las demás personas que trabajen en el mismo espacio. Lleve siempre la ropa protectora necesaria (bata o bata de laboratorio, guantes protectores, gafas de seguridad o protector facial). Absorba el líquido en toallitas de papel u otras toallas desechables y colóquelas en una bolsa para residuos biológicos peligrosos esterilizable en autoclave. Limpie primero el área contaminada con cantidades adecuadas de desinfectante virucida, como solución de Barrydin al 2 % o hipoclorito sódico al 1 % o Virkon®, seguido de una toallita con etanol al 70 %. Lave y desinfecte las manos cuidadosamente primero con jabón para manos y luego con solución desinfectante para manos. Deseche los EPI usados y los residuos contaminados de acuerdo con los procedimientos del hospital definidos para los residuos biológicos peligrosos.

-Diseminación de OGM en una zona amplia

En caso de derrame sobre superficies o de rotura de un vial, aisle el espacio donde ocurrió el accidente (bloquee la puerta y ponga un aviso fuera del lugar para informar del accidente). Compruebe que no haya personas externas expuestas a la solución. Abandone la sala durante 30 minutos. Lleve siempre la ropa protectora necesaria (bata o bata de laboratorio, guantes protectores, gafas de seguridad, protector facial y mascarilla) cuando vuelva para limpiar la solución que se ha derramado. Cubra la solución derramada con toallitas de papel u otras toallas desechables. Empiece desde el borde y vaya hacia el centro. Vierta el desinfectante virucida, como solución de Barrydin al 2 %, hipoclorito sódico al 1 % o Virkon®, sobre las toallas empezando desde el borde hacia el centro. Deje que el desinfectante haga efecto durante el tiempo de contacto necesario. Retire las toallas y los posibles viales rotos con herramientas de agarre como pinzas. Coloque las toallas en una bolsa para residuos biológicos peligrosos esterilizable en autoclave y el vial roto en

el recipiente para residuos biológicos peligrosos para objetos cortantes y punzantes, si es posible. Limpie la zona contaminada con una cantidad adecuada de desinfectante virucida, seguida de etanol al 70 %. Si la superficie no se puede limpiar, pulverice uniformemente la zona con el desinfectante y enjuague el desinfectante pulverizando etanol al 70 %. Deseche los EPI usados y otros residuos contaminados en la bolsa de residuos biopeligrosos y deséchelos de acuerdo con los procedimientos del hospital.

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

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

El personal del hospital, el promotor del estudio y las autoridades sanitarias registrarán y evaluarán todos los acontecimientos adversos que se produzcan durante el transcurso del estudio, y se notificará a las autoridades sanitarias cuando proceda.

Los posibles efectos directos en la salud humana se limitan a la transmisión de ONCOS-102 a un destinatario humano no diana. Se espera que estos posibles efectos adversos sean los mismos que los que se esperan en los pacientes que reciben el tratamiento, aunque de intensidad mucho menor.

Los posibles efectos indirectos de la liberación se limitan a las consecuencias de la diseminación de ONCOS-102 desde el lugar de la inyección, de la diseminación o de la liberación del adenovirus de tipo salvaje o variantes genéticas a través de la contaminación del producto durante la fabricación o después de la recombinación en las células del receptor, que son todas muy improbables.

En caso de diseminación, se prevé que la exposición sea transitoria y la cantidad de partículas de virus sea baja en comparación con las dosis que reciben los pacientes en el ensayo propuesto. Además, es probable que las personas expuestas hayan sido inmunizadas previamente con adenovirus de tipo salvaje. Por lo tanto, los riesgos para la salud pública de ONCOS-102 son muy bajos.

En el caso de efectos no deseados, las decisiones con respecto al tratamiento deben ser individuales y caso por caso. Debido a que no existe un tratamiento específico para la infección por adenovirus, el receptor humano expuesto accidentalmente, así como los pacientes que sufren una reacción adversa, pueden abordarse con un tratamiento sintomático y de apoyo para aliviar los síntomas. Por ejemplo, la pirexia, que es la reacción adversa más frecuente, se puede tratar adecuadamente con paracetamol (acetaminofeno) o ibuprofeno. Además, se han utilizado varios fármacos como cidofovir, ribavirina, ganciclovir y vidarabina para tratar infecciones por adenovirus, especialmente en pacientes inmunodeprimidos.

Los posibles efectos en el medio ambiente podrían ser la diseminación de ONCOS-102 al medio ambiente o la transferencia de material genético insertado a un virus animal. Se prevé que la diseminación del virus o de posibles recombinantes tan solo sea infecciosa para los humanos. Por lo tanto, las consecuencias de la exposición al medio ambiente son menores. El riesgo de que ONCOS-102 constituya efectos no deseados para el medio ambiente es muy bajo.

Las precauciones que se enumeran a continuación se toman para proteger el medio

ambiente y la salud de las personas:

-Diseño del modelo vírico

Se han incorporado múltiples características de seguridad a ONCOS-102. La posibilidad de que se creen variantes genéticas estables con características no previstas se minimiza gracias al diseño del modelo genético de ONCOS-102.

-Control de la liberación

Solo se distribuirá ONCOS-102 a centros del estudio aprobados, en los que un farmacéutico cualificado con formación específica sobre el protocolo será el responsable de la recepción de los materiales, de la conservación, de la documentación de la trazabilidad del producto en el centro de investigación, de la reconstitución el día de administración y de la eliminación. Un profesional médico formado, un investigador debidamente formado o una persona designada con experiencia en la aplicación del fármaco IT deberá inyectar ONCOS-102 a los sujetos de acuerdo con el protocolo del ensayo clínico.

La fabricación, el suministro y la trazabilidad de ONCOS-102 se controlará y supervisará de acuerdo con las normativas farmacéuticas.

Antes de la administración, el producto se conserva en un congelador a temperatura controlada -20 ± 5 °C en la farmacia o en otro lugar seguro adecuado.

El producto en investigación no se distribuirá a ninguna persona fuera de los términos y condiciones establecidos en el protocolo del ensayo clínico. El investigador o quien este designe recetará el medicamento del estudio y se podrá usar para ningún otro fin que no sea el descrito en el protocolo del ensayo clínico.

-Precauciones para el transporte

El transporte, la recepción y el almacenamiento seguros de ONCOS-102 se indican en el manual farmacéutico. La hoja de datos de seguridad de materiales de ONCOS-102 incluye instrucciones para la manipulación de vertidos y está en todos los envíos.

Para el transporte de ONCOS-102, el envase debe tener una etiqueta visible que indique “organismo modificados genéticamente” o “este producto contiene un organismo modificados genéticamente”. Este texto también debe aparecer en los documentos adjuntos durante el transporte.

ONCOS-102 se transporta en condiciones de temperatura controlada y de acuerdo con las normativas sobre mercancías peligrosas de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (IATA). ONCOS-102 se transporta a -20 ± 5 °C. En cuanto al transporte del fármaco reconstituido desde la farmacia a la sala de tratamiento, el manual farmacéutico de ONCOS-102 contiene instrucciones para etiquetar y empaquetar la dosis preparada en un recipiente de plástico hermético, designado para las jeringas de administración de ONCOS-102 y marcado con un signo de peligro biológico para llevarlo al centro de administración. En el transporte se incluye un equipo separado para derrames en caso de derrames accidentales.

-Precauciones para la manipulación y administración

Las precauciones de uso se proporcionan en el manual farmacéutico. La inyección debe administrarla un investigador debidamente formado o una persona designada con experiencia en la aplicación de fármacos IT en un centro del estudio aprobado.

Durante la administración y preparación del medicamento se seguirán las directrices del centro para manipulación, equipo de protección personal, derrames accidentales y desechos.

En caso de exposición accidental, se recomienda documentar el curso de los acontecimientos de la forma más exacta posible (por ejemplo, la cantidad de ONCOS-102 y las personas incluidas, la hora y el lugar del accidente) para poder hacer otra evaluación posterior.

En caso de que se produzca cualquier incidente o accidente, se informará inmediatamente al Comité nacional de bioseguridad de acuerdo con las obligaciones del promotor. También se proporciona al centro del ensayo clínico un formulario para notificar los accidentes como anexo al manual farmacéutico.

- Etiquetado del producto

El etiquetado y la información del producto contienen información esencial para minimizar el riesgo de exposición a una persona o al medio ambiente no previstos.

El manual farmacéutico contiene instrucciones para etiquetar y empaquetar la dosis preparada en un recipiente de plástico hermético, designado para las jeringas de administración de ONCOS-102 y marcado con un signo de peligro biológico para llevarlo al centro de administración.

-Inactivación

Los adenovirus de tipo salvaje son resistentes a los desinfectantes lipídicos, pero se inactivan con el formaldehído y el cloro. Así mismo, también se produce una inactivación variable con yodo y luz UV. El ADN vírico se puede seguir detectando una vez destruida la infectividad. Las modificaciones genéticas de ONCOS-102 no interfieren en la sensibilidad a la inactivación física y química.

Las superficies de trabajo se deben descontaminar con un desinfectante químico con actividad virucida y un 70 % de EtOH antes y después de la preparación y la administración de la dosis de ONCOS-102.

Inactivación física: El adenovirus se puede inactivar con calor. Si se calienta a temperaturas $>56^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos, a 70°C durante 20 minutos o se esteriliza en autoclave, se destruirá la infectividad.

Inactivación química: El virus del adenovirus se puede desactivar por contacto con una dilución de lejía 1:5 durante 1 minuto o por contacto con geles de manos a base de alcohol durante 2 minutos. El alcohol etílico, a concentraciones del 60 % al 80 %, es un potente agente virucida que inactiva todos los virus lipófilos y muchos virus hidrófilos. Para lograr una breve desinfección, el fabricante recomienda utilizar una solución de Barrydin al 2,0 % durante 60 minutos o a una solución de Barrydin al 4,0 % durante 30 minutos. Se propone Virkon®S líquido al 0,9 % para los procedimientos de descontaminación del adenovirus de tipo 5 y 6 con tiempos de contacto superiores a los cinco minutos.

-Comunicación de riesgos y precauciones

La hoja de información al paciente contiene información esencial para minimizar el riesgo de transmisión a una persona no deseada.

El manual farmacéutico contiene información que incluye precauciones e instrucciones para la manipulación del adenovirus modificado genéticamente,

descripción del método y de los EPI que se van a utilizar, medidas a tomar tras una exposición accidental, descripciones de los síntomas principales de la infección por adenovirus e instrucciones para informar a un profesional médico en caso de presentar síntomas.

-Actividades de monitorización

ONCOS-102 se debe administrar primero mediante inyección intratumoral, y después del periodo de observación requerido, se administrará balstilimab mediante infusión intravenosa (si procede). El protocolo del estudio clínico obliga supervisar a los pacientes durante un mínimo de 30 minutos y hasta 1 hora \pm 30 minutos tras el fin de la inyección de ONCOS-102 y hasta 1 hora \pm 30 minutos tras el fin de la infusión de balstilimab.

La monitorización de los efectos directos e indirectos de ONCOS-102 en los sujetos se llevará a cabo mediante las evaluaciones clínicas definidas en el protocolo del ensayo. Los investigadores del estudio supervisarán a los pacientes durante todo el tratamiento.

Se utilizará una organización de investigación por contrato (CRO) independiente para las actividades de supervisión del estudio y de gestión de datos. Cualquier acontecimiento adverso grave será notificado dentro de los plazos establecidos al promotor, y según proceda, a cada una de las autoridades reguladoras nacionales que dicte la legislación farmacéutica.

Se medirán y registrarán las constantes vitales (pulso, frecuencia respiratoria, tensión arterial y temperatura) antes de la administración del tratamiento. Se supervisaré la tensión arterial, el pulso, la frecuencia respiratoria y la temperatura durante 1 hora \pm 30 minutos después de la inyección de ONCOS-102 y (en la cohorte 2) 1 hora \pm 30 minutos después de la infusión de balstilimab, y de nuevo antes del alta hospitalaria del paciente, de 2 a 4 horas después de la recepción de la dosis. Se podrá realizar otra supervisión si está clínicamente indicado.

La evaluación analítica (hematología, bioquímica y análisis de orina) se realizará en puntos temporales especificados previamente y, además, cuando se indique clínicamente.

Referencias

Flomenberg, P. (2009). Adenovirus infections. *Medicine*, 37(12), 676-678.

Fueyo, J., C. Gomez-Manzano, R. Alemany, P. S. Lee, T. J. McDonnell, P. Mitlianga, Y. X. Shi, V. A. Levin, W. K. Yung and A. P. Kyritsis 2000. "A mutant oncolytic adenovirus targeting the Rb pathway produces anti-glioma effect in vivo." *Oncogene*. 19: 2-12.

Harui, A., Suzuki, S., Kochanek, S., Mitani, K. (1999). Frequency and stability of chromosomal integration of adenovirus vectors.

Kanerva, A., K. R. Zinn, K. W. Peng, T. Ranki, L. Kangasniemi, T. R. Chaudhuri, R. A. Desmond, M. Wang, K. Takayama, T. Hakkarainen, H. Alftan, U. H. Stenman, D. T. Curiel and A. Hemminki (2005). Noninvasive dual modality in vivo monitoring of the persistence and potency of a tumor targeted conditionally replicating adenovirus. *Gene Ther.* 12: 87-94.

Liikanen, I., Ahtiainen, L., Hirvonen, M., Bramante, S., Cerullo, V., Nokisalmi, P., Hemminki, O., Diaconu, I., Pesonen, S., Koski, A., Kangasniemi, L., Pesonen SK., Oksanen, M., Laasonen, L., Partanen, K., Joensuu, T., Zhao, F., Kanerva, A., and Hemminki, A. (2013) Oncolytic Adenovirus with Temozolomide Induces Autophagy and Antitumor Immune Responses in Cancer Patients. *Molecular Therapy* (2013); 21 6, 1212–1223.

Maheshwari, G., Jannat, R., McCormick, L., Hsu, D. (2004) Thermal inactivation of adenovirus type 5. *J Virol Methods.* Jun 15;118(2):141-6.

McCormick, L., Maheshwari, G. Inactivation of adenovirus types 5 and 6 by Virkon. (2004). *Antiviral Research* 64: 27–33.

Norkin, L.C. (2010). Adenoviruses. In Norkin, L.C *Virology: Molecular Biology and Pathogenesis.* ASM Press.

Ponce S, Cedres S, Ricordel C, et al. Final survival outcomes and immune biomarker analysis of a randomized open-label, phase I/II study combining oncolytic adenovirus ONCOS-102 with pemetrexed/cisplatin in patients with unresectable malignant pleural mesothelioma. Abstract # 8561, Presented at ASCO, 3-7 Jun 2022, Chicago, IL.

Ranki T., Joensuu, T., Jäger, E., Karbach, J., Wahle, C., Kairemo, K., Alanko, T., Partanen, K., Turkki, R., Linder, N., Lundin, J., Ristimäki, A., Kankainen, M., Hemminki, A., Backman, C., Diemel, K., von Euler, M., Haavisto, E., Hakonen, T., Juhila, M., Jaderberg, M., Priha, P., Vassilev, L., Vuolanto, A., Pesonen, S. (2014) Local treatment of a pleural mesothelioma tumor with ONCOS-102 induces a systemic antitumor CD8+ T-cell response, prominent infiltration of CD8+ lymphocytes and Th1 type polarization. *OncoImmunology*, 2014 Volume 3, Issue 10.

Robinson, C., & Echavarría, M. (2007). Adenoviruses. En P. R. Murray, E. J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9^o ed., pp. 1589) ASM Press.

Robinson, C., & Echavarría, M. (2007). Adenoviruses. En P. R. Murray, E. J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller & M. L. Landry (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9^o ed., pp. 1589) ASM Press.

Vassilev, L., T Ranki, T Joensuu, E Jäger, J Karbach, C Wahle, K Partanen, K Kairemo, T Alanko, R Turkki, N Linder, J Lundin, A Ristimäki, M Kankainen, A Hemminki, C

Backman, K Dienel, M von Euler, E Haavisto, T Hakonen, J Juhila, M Jäderberg, P Priha, A Vuolanto & S Pesonen. (2015). Repeated intratumoral administration of ONCOS-102 leads to systemic antitumor CD8+ T-cell response and robust cellular and transcriptional immune activation at tumor site in a patient with ovarian cancer. *OncoImmunology* Accepted author version posted online: 01 Apr 2015.

Wiklund ED, Kuryk L, Hansen TB, et al. Modulation of immune gene expression by intratumoral oncolytic adenovirus ONCOS 102 is associated with clinical response in anti PD-1 refractory/resistant melanoma. Poster presented at American Association for Cancer Research (AACR) Annual Meeting, 11th April 2022, New Orleans, Louisiana.