

**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/16/07
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	17/08/2016
d) Título del proyecto:	<p>Ensayo clínico RSV PED-002: “Estudio Fase I/II aleatorizado, observador ciego, controlado, multicéntrico, con escalado de dosis para evaluar la seguridad, la reactogenicidad y la inmunogenicidad de la vacuna experimental frente el virus respiratorio sincitial (VRS) de GSK Biologicals basada en las proteínas virales F, N y M2-1 del VRS codificadas por un adenovector derivado del chimpancé (ChAd155-RSV) (GSK3389245A), administrada por vía intramuscular según pauta 0, 1 meses a niños seropositivos frente al VRS de 12 a 17 meses de edad.</p> <p>Título breve: “Estudio para evaluar la seguridad, la reactogenicidad y la inmunogenicidad de la vacuna experimental frente al virus respiratorio sincitial (VRS) de GSK Biologicals basada en proteínas virales codificadas por un adenovector derivado del chimpancé (ChAd155 RSV) (GSK3389245A) en niños seropositivos frente al VRS”.</p>
e) Período propuesto para la liberación:	<p>El periodo de liberación propuesto para todo el ensayo clínico RSV PED-002 es desde septiembre de 2016 hasta enero de 2018. La duración del ensayo será aproximadamente de 16 meses, desde el primer paciente reclutado hasta la última visita del último paciente (fecha de terminación del estudio).</p>

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	GlaxoSmithKline Biologicals Rue de l’Institut, 89 1330 Rixensart, Belgium
-------------------------------------	---

3. Definición de la OMG

El nombre del OMG es ChAd155-RSV.

Este virus recombinante es un organismo modificado genéticamente (OMG) basado en un adenovirus simio (derivado de chimpancé) serotipo 155 del grupo C (ChAd155) sin capacidad de replicación, que se ha construido delecionando la región E1 y E4 del genoma viral y que por ingeniería genética expresa tres proteínas del VRS: la proteína de fusión F (delecionada en la región transmembrana y el endodominio F0ΔTM), la proteína N de la nucleocápside y la proteína anti-terminación de la transcripción M2-1. Estos genes de los antígenos VRS se han insertado en la zona delecionada del gen E1.

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> rAdV- producto de terapia génica recombinante no replicativo.
	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) Family: <i>Adenoviridae</i> Genus: <i>Mastadenovirus</i> Species: Es un vector adenoviral recombinante (no replicativo) derivado del serotipo 155 del adenovirus de chimpancé del subgrupo C. La identidad del OMG es ChAd155-RSV, como único nombre utilizado para este vector recombinante. ChAd155-RSV es un organismo modificado genéticamente procedente del adenovirus simio (derivado de chimpancé) serotipo 155 del grupo C (ChAd155). Este adenovirus es miembro del genus <i>Mastadenovirus</i> , que se encuentra dentro de la familia <i>Adenoviridae</i> .		

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

El OMG (vector ChAd155-RSV) es un adenovirus simio que tras su administración al organismo diana se localiza en el núcleo de la célula huésped, aunque no integra su ADN en el genoma de la célula huésped. La integración del ADN de adenovirus en el genoma de la célula huésped se ha observado como un evento extremadamente raro en algunos cultivos primarios de líneas celulares humanas. También de acuerdo a las guías de referencia de la EMA, los vectores adenovirales son considerados como vectores no-integrativos.

El OMG es un vector no competente para su replicación y por lo tanto estable genéticamente por defecto, considerando que no presenta ningún mecanismo interno para la variación/transferencia genética. Como el OMG no es capaz de replicar su genoma, no se esperan alteraciones en el genoma.

La estructura genética de la vacuna OMG es verificada en diferentes puntos en el proceso de producción para demostrar la integridad del vector y la identidad del inserto (como el patrón de restricción y la secuenciación del genoma completo). Todos los análisis de caracterización genética en los productos analizados han mostrado conformidad con las secuencias predichas.

Los adenovirus tienen un genoma de ADN de doble cadena, una resistente cápside, y no tienen membrana lipídica, por lo que se espera que sean estables. Factores que pueden afectar su estabilidad genética son la temperatura, aunque los adenovirus sólo se inactivan a temperaturas superiores a los 56°C, y la luz ultravioleta, ambas condiciones ausentes del medioambiente habitual.

Uno de los factores que puede afectar la estabilidad genética es la generación de adenovirus competentes para replicación (ACR de las siglas en inglés replication competent adenoviruses). La formación de ACR puede tener lugar por recombinación homóloga entre el vector viral ChAd155 y la región E1 del adenovirus humano serotipo 5 (HuAd5) de la célula huésped. Aunque el riesgo de la aparición de este evento se considera muy baja, ChAd155-RSV es analizado para detectar la presencia de ACR usando un ensayo específico para RCA [especificación:  $<1 \text{ RCA} / 3 \times 10^{10} \text{ pv}$  (partículas virales); aunque la EMA no recomienda un nivel específico, este valor se encuentra dentro del rango recomendado por la FDA (meeting#30)]. La confirmación de la ausencia de ACR se ha demostrado en todos los lotes producidos hasta la fecha.

El OMG se almacena a  $<-60^\circ\text{C}$  hasta su uso. La estabilidad a largo plazo se ha demostrado hasta 12 meses cuando se almacena a  $<-60^\circ\text{C}$ , mostrando que el material alcanza las especificaciones de estabilidad del producto a lo largo de este periodo temporal. Los procedimientos analíticos chequeados para asegurar la estabilidad genómica incluyen la potencia, mediante la concentración de partículas y la cuantificación por Q-PCR, el título infeccioso del virus mediante inmuno-tinción del hexón, identidad mediante PCR, y potencia mediante expresión del transgen por Western Blot.

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: IT	

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: <b>GB</b> - Número de la notificación: <b>GM462.15.81; EudraCT number: 2014-005333-31; REC: 15/SC/0133.</b>	

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: <b>Estado no miembro: EEUU</b> - Número de la notificación: <b>No aplicable. De acuerdo a la legislación de EEUU no se tiene que notificar la liberación de un OMG.</b>	

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

No hay datos disponibles sobre el impacto ambiental de la liberación de ChAd155-RSV, ya que el primer ensayo clínico en humanos usando el mismo OMG se está llevando a cabo al mismo tiempo de esta notificación en Reino Unido (protocolo RSV PED-001).

El OMG de esta notificación de liberación voluntaria, ChAd155-RSV, es deficiente para su replicación e incorpora un casete de expresión basado en el ADN de los antígenos de VRS (proteína F de fusión, proteína N de nucleocápside, y proteína M2-1 de anti-terminación de la transcripción) bajo el control del promotor del citomegalovirus humano (HCMV). Además, el genoma adenoviral permanece de forma epicromosomal de forma que se evita el riesgo de integración del ADN viral en el genoma huésped tras la infección de las células huésped (Feuerbach and Crystal 1996). Por lo tanto, ChAd155-RSV no es capaz de sobrevivir fuera de la célula huésped (animal).

Está planificado que el ChAd155-RSV se administre en un ensayo fase I/II de terapia génica internacional multicéntrico en EEUU, Italia y España, tratando a un total de 96 niños RSV-seropositivos de 12 a 17 meses de edad en el momento de la primera vacunación, en un estudio randomizado 1:1 de escalado de dosis; por lo tanto, el OMG se administrará a 48 sujetos en total. La vacunación será limitada a un máximo de 10 niños cada día. En el mismo centro del estudio, se vacunarán los niños de forma secuencial, separados con un intervalo mínimo de 60 minutos para permitir la monitorización de cualquier acontecimiento adverso (por ej. reacción de hipersensibilidad). El estudio está diseñado de forma escalonada para permitir el escalado de dosis desde  $5 \times 10^9$  pv a la dosis  $5 \times 10^{10}$  pv (de forma similar al estudio Fase I en adultos del estudio RSV PED-001). Una tercera dosis intermedia de  $1.5 \times 10^{10}$  pv se ensayará por primera vez en este estudio de población pediátrica para permitir un escalado más progresivo de los riesgos relacionados con la dosis en esta población vulnerable. 32 niños serán reclutados en cada etapa, con una edad de 12 a 17 meses para asegurar que 96 niños reciben al menos una dosis de la vacuna del estudio. El avance a la siguiente etapa estará condicionado a la evaluación favorable de los datos de seguridad obtenidos hasta 7 días después de la administración de la

segunda dosis de vacuna en la etapa previa (para todos los sujetos), realizado por un Comité de Monitorización de Datos Independiente.

El ensayo clínico en España va a ser multi-céntrico [Hospital Universitario La Paz; Hospital Clínico Universitario de Santiago; Area de Vacunas, Centro de Investigación en Salud Pública, Valencia; Hospital Universitari i Politècnic La Fe; Hospital Universitario de Móstoles].

El OMG se almacenará en las condiciones respectivas de almacenamiento de la etiqueta en un lugar seguro y cerrado. El almacén que se usará para los medicamentos en investigación debe estar claramente delimitado y separado físicamente de otros fármacos, muestras/artículos contenidos en el almacén. El acceso al equipo de almacenamiento (frigorífico/cámara fría/congelador) deber estar restringido al personal autorizado. Las condiciones de almacenamiento serán comprobadas durante las actividades pre-estudio, bajo la responsabilidad del contacto del promotor del estudio. La temperatura de almacenamiento se monitorizará continuamente con un(os) dispositivo(s) de monitorización de temperatura calibrado (si no validado) y grabará.

El OMG se administrará en el hospital a través de una inyección intramuscular en el deltoides. El sitio de la administración de la Dosis 2 preferiblemente debe ser el mismo que el sitio de la administración de la Dosis 1. Los sujetos serán observados estrechamente (tanto seguimiento visual como mediciones de signos vitales en reposo) durante al menos 60 minutos tras la administración de las vacunas. Posteriormente el paciente será seguido por un total de 12 meses dentro del ensayo clínico con un total de 19 visitas en centro.

La distribución y la persistencia de la vacuna ChAd155-RSV hasta 70 días post-dosis fueron evaluadas en un estudio de biodistribución BPL en ratas. ChAD155-RSV fue indetectable en muestras de cerebro, corazón, riñón, pulmón, ovario y testículo en los Días 2 y 8, o en muestras de sangre testadas en el Día 8 solamente. ChAd155-RSV fue cuantificado en un nivel ligeramente superior al límite inferior de cuantificación en el hígado de un animal, y en el bazo de cuatro animales den el Día 2, pero no se detectó posteriormente en ninguno de los órganos en el Día 8. ChAd155-RSV se detectó desde el Día 2 en la zona de la inyección y en los ganglios linfáticos de drenaje, incluyendo el ilíaco, inguinal, y hasta cierto punto, el nódulo linfático poplíteo. Los niveles más altos fueron detectados en el Día 2, y los niveles descendieron progresivamente en el tiempo, con niveles indetectables en el músculo en el Día 29 en algunos animales y en la mayoría de animales en el Día 70, y en los nódulos linfáticos de la mayoría de animales en el Día 70. Las cantidades detectadas en las muestras de tejidos/órganos en todos los puntos de tiempo ensayado, fueron inferiores a 30,000 copias/ $\mu$ g de ADN huésped celular, que se encuentra por debajo del nivel del umbral para los que serían necesarios más estudios. Por lo tanto, no se disemina dentro del huésped diana. La distribución y persistencia de la vacuna ChAd155-RSV en desarrollo es consistente con otras vacunas similares de tipo vector-adenoviral.

Hay una posibilidad teórica de excreción de partículas infecciosas al medio ambiente y potencialmente al público durante la liberación propuesta. Los adenovirus recombinantes defectivos se han usado ampliamente en ensayos clínicos, bien a través de administración directa, o en estrategias de terapia celular (contenidos en las células). La mayoría de los estudios no han detectado liberación viral en muestras biológicas (esputo, saliva, orina, heces) y cada vez que se detectaba a través de saliva u orina, desaparece a los pocos días de la administración. Además, OMG se administrará por inyección intramuscular (IM), una ruta que

limita su excreción potencial. Usando esta ruta de administración, los estudios muestran que hay una excreción limitada del vector y una difusión limitada a otros tejidos, ya que el vector viral permanece localizado en el sitio de inyección.

Datos de un adenovirus simio E1/E4 delecionado similar (CdAd3) pero expresando el gen del Virus de la Hepatitis C, muestran que no se observó excreción del vector viral (en orina y frotis de garganta) tras la inmunización intramuscular con adenovirus humano o chimpancé (estudio clínico HCV001, EudraCT Number: 2007-004259-12). Tampoco se observó excreción usando un OMG derivado de otra cepa de adenovirus simio durante otro ensayo clínico (Wold and Toth 2013). Por lo tanto, como la distribución y persistencia de la vacuna ChAd155-RSV en desarrollo es consistente con otras vacunas tipo vector-adenoviral similares (Sheets et al. 2008) se espera una excreción del vector similar de este OMG.

No hay datos clínicos/no clínicos de excreción para este OMG, basado en el hecho de que no es obligatorio en esta etapa de desarrollo de acuerdo a las guías de referencia de la FDA y la EMA.

De acuerdo a la FDA los estudios de excreción deben realizarse en la población diana durante los estudios Fase II (después de que la dosis y el régimen se hayan determinado)(<http://www.fda.gov/downloads/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/cellularandgenetherapy/ucm404087.pdf>), mientras que de acuerdo a la EMA, el momento exacto debe discutirse con la autoridades([http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500002680](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002680)). Sin embargo, se planean realizar estudios de excreción del vector en un futuro cercano para confirmar estas observaciones.

La probabilidad de que ChAd155-RSV se convierta en persistente e invasivo en el hábitat natural es bajo por las siguientes razones:

- El riesgo de aparición de la formación de adenovirus competentes para su replicación (ACR) procedentes de la recombinación homóloga entre el vector viral ChAd155 y la región E1 del Ad5 humano de la célula huésped es considerado muy bajo, debido a la falta de homología de secuencia entre las regiones flanqueantes de E1 humanas del Ad5 humano, y del E1 del adenovirus de chimpancé. Se ha visto que la recombinación y producción de ACR no ocurre cuando se propagan en células HEK293 (Colloca and Folgori 2013), eliminando así el problema de generación de ACR durante la producción del vector adenoviral. Para control esta cuestión, el material de la sustancia activa Ch155Ad-RSV es testado para la presencia de ACR durante las diferentes etapas del proceso de producción [ver sección A.3.(c)].
- La transferencia génica horizontal es improbable y debido a las características de las secuencias Ch155Ad-RSV no hay posibilidad de que confiera una ventaja selectiva a bacterias u otros microorganismos, porque no contiene ningún promotor procariota, ningún gen de resistencia a antibiótico o de otro tipo de resistencia que pudiera potenciar o constreñir su crecimiento.
- En lo que se refiere a humanos, el riesgo de infección con este OMG es casi nulo debido a que su liberación por los pacientes es limitada en el tiempo y a unas dosis muy bajas. Los estudios de toxicidad fueron realizados y descartaron cualquier toxicidad tanto del vector en sí mismo como del producto de la expresión del transgen; por lo tanto, no se prevén efectos nocivos.

La probabilidad de que algún efecto negativo pueda ocurrir se considera despreciable, no hay riesgo para las personas, animales, microorganismos y el

medioambiente, ya que la liberación del OMG es planeada durante un ensayo clínico, y se administrará intramuscularmente a los pacientes.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase)
Otros, (especifíquense):	
<p>El organismo receptor contiene delecciones en las regiones E1 y E4 y una sustitución de la región E4 nativa por el E4Orf6 del adenovirus humano 5 (Ad5). Los adenovirus derivados de chimpancé exhiben homología de secuencia con los adenovirus humanos dentro de la proteína del hexón en particular, que es la proteína principal de la cápside que se usa para la clasificación de subgrupos de los adenovirus (Colloca et al. 2012; Roy et al. 2011). La mayoría de los adenovirus de simio conocidos hasta la fecha fueron detectados o aislados de individuos cautivos y propagados en cultivo celular. Desafortunadamente, se sabe poco sobre ellos en los animales salvajes. No se sabe que causen enfermedades patológicas en humanos y los anticuerpos contra adenovirus de chimpancé tienen baja o ninguna seroprevalencia, con un rango que va desde el 0-4% en Europa y en Estados Unidos, hasta el 20% en países en desarrollo, que es bastante menos que el más común adenovirus humano serotipo 5 (Ad5), con ratios de seroprevalencias del 40-45% en los Estados Unidos y hasta el 90% en África sub-sahariana (Capone et al. 2013). Por estas razones los vectores adenovirales de simio están siendo usados como vectores para ensayos clínicos de terapia génica estando actualmente registrados 22 ensayos clínicos en humanos usando este tipo de vector (clinicaltrials.gov).</p>	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Adenoviridae</i>
ii) Género: <i>Mastadenovirus</i>



iii) Especie: <a href="#">adenovirus simio subgrupo C</a>
iv) Subespecie: <a href="#">N/A</a>
v) Cepa: <a href="#">Serotipo 155 de adenovirus de chimpancé. El organismo receptor contiene deleciones en las regiones E1 y E4 y sustituciones de la región nativa E4 por la E4Orf6 del adenovirus humano 5 (Ad5).</a>
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): <a href="#">N/A</a>
vii) Nombre vulgar: <a href="#">adenovirus de chimpancé tipo 155 (ChAd155).</a>

### 3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí <input type="checkbox"/>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico <input type="checkbox"/>	
Mediterráneo <input type="checkbox"/>	
Boreal <input type="checkbox"/>	
Alpino <input type="checkbox"/>	
Continental <input type="checkbox"/>	
Macaronésico <input type="checkbox"/>	
ii) No <input checked="" type="checkbox"/>	
iii) No se sabe <input type="checkbox"/>	
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

### 4. Hábitat natural del organismo

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

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense): El huésped natural del adenovirus ChAd155 es el chimpancé. El adenovirus parental ChAd155 no se encuentra en el ecosistema natural fuera de su huésped natural. El organismo parental fue aislado de un chimpancé sano y joven alojado en las instalaciones del New Iberia Research Center (Universidad de Louisiana en Lafayette).	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No aplica.	

5.a) Técnicas de detección

Los adenovirus simios de tipo salvaje son detectados usando una PCR de acuerdo a las secuencias generales de adenovirus simio o específicas para el análisis del serotipo 155. También pueden detectarse mediante un ensayo de inmunocitoquímica con un anticuerpo anti-hexón que ha mostrado reactividad contra la proteína del hexón de ChAd155.
--

5.b) Técnicas de identificación

Los adenovirus simios de tipo salvaje son detectados usando una PCR de acuerdo a las secuencias generales adenovirales de simio o específicas del serotipo de análisis. La secuenciación de ADN también se usa para la identificación de los adenovirus de simio.
---

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: En términos de clasificación de riesgo, el adenovirus humano es considerado como un agente biológico del grupo 2 según la clasificación de la Comunidad Económica Europea para la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados a la exposición a agentes biológicos (Directiva 2000/54/CE). La designación del grupo 2 aplica a los agentes que pueden causar enfermedades en el hombre y pueden ser un riesgo para los trabajadores, que es poco probable que se propague a la comunidad y para el que hay normalmente una profilaxis efectiva o un tratamiento disponible.	

Sin embargo, muchos vectores virales como nuestro organismo parental han sido contruidos mediante la delección de la región E1 que codifica genes clave requeridos para el crecimiento viral. Estos vectores delecionados en E1 están discapacitados y son incapaces de establecer una infección productiva y transmisible en humanos. Por lo tanto, estos vectores E1 delecionados se pueden considerar a- virulentos y pueden ser manejados de forma segura en un nivel de contención 1 (<http://www.hse.gov.uk/biosafety/gmo/acgm/acgmcomp/part2.pdf>).

ChAd155 es de la especie de chimpancés, que no está clasificado específicamente por la directiva de la CEE. Basado en la incapacidad del adenovirus simio de causar enfermedades en humanos y los resultados de estudios de toxicidad que demostraron seguridad y tolerabilidad, el OMG no se considera que suponga un riesgo para la salud humana. ChAd155 se ha manipulado bajo un nivel de contención 1 (BSL1) hasta la fecha ya que está delecionado en la región E1 permitiendo el manejo del organismo parental bajo las reglas BSL1.

Un vector de un tipo similar es usado en una notificación previa de una liberación voluntaria de un adenovirus simio recombinante en el contexto de un ensayo clínico en humanos (B/ES/12/09) que ha sido presentado al CIOMG con una clasificación de bioseguridad BSL1.

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE. Los adenovirus son clasificados como Clase 2 bajo la Directiva 2000/54/EC debido a su limitada patogenicidad. Los adenovirus humanos causan normalmente infecciones asintomáticas en humanos, aunque pueden también causar infecciones en las vías respiratorias, molestias gastrointestinales e infecciones oculares con una severidad variable. Son más frecuentes en niños y en población inmunocomprometida. El periodo de incubación abarca de 1 a 10 días. La mayoría de la población es seropositiva para más de una subespecie de adenovirus y puede producir rápidamente anticuerpos neutralizantes. El principal huésped es el hombre, y la mínima dosis infectiva es >150 unidades formadores de placa intra-nasalmente.		

Normalmente el virus entra por las vías respiratorias o los ojos a través de aerosoles producidos por individuos infectados. La mayoría de las infecciones son menores en naturaleza y auto-limitantes. Los adenovirus normalmente no se integran en el genoma de la célula huésped y no persisten en los tejidos linfoides. Los adenovirus pueden transmitirse entre individuos por vía fecal-oral por gotitas por vía respiratoria, por vía manos-ojo y por vía venérea.

Las infecciones de adenovirus en primates no-humanos (NHP) son también predominantemente subclínicas, excepto para algunos casos de neumonía en animales inmunodeprimidos infectados con virus de inmunodeficiencia simio (SIV). Los adenovirus recombinantes defectivos se han usado ampliamente en ensayos clínicos, tanto mediante administración directa como en estrategias de terapia celular (contenidos en el interior de células). Los adenovirus no replicativos que carecen de El fueron clasificados como nivel de bioseguridad clase 1 para propósitos de Investigación y Desarrollo.

## 8. Información sobre reproducción

### a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El ciclo de infección del adenovirus salvaje, desde la infección de una célula a la producción de nuevas partículas infecciosas consiste en los siguientes pasos: (1) adhesión a la membrana celular; (2) endocitosis mediada por receptor; (3) incorporación al endosoma; (4) liberación por parte del endosoma o lisosoma; (5) translocación al núcleo; (6) eliminación de la envoltura; (7) transcripción del ADN viral; (8) expresiones de genes rep; (9) replicación del genoma; (10) expresión de genes cap, síntesis de partículas de ADN de la progenia; (11) ensamblaje de los viriones completos, y (12) liberación desde la células infectada.

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

La replicación del ADN adenoviral es un proceso muy eficiente. En 40 horas, una célula infectada produce aproximadamente un millón de copias de ADN viral.

### c) Modo de reproducción

Sexual

Asexual

### d) Factores que afectan a la reproducción:

Los adenovirus son capaces de infectar tanto células en división como células en reposo. El resultado de una infección de adenovirus depende de la especie animal, el tipo celular y el tipo de virus implicado. Las células difieren en cuanto a su permisividad para los tipos de adenovirus ya que en células permisivas el virus se multiplica productivamente, mientras que en células semipermisivas la replicación se permite a una eficiencia baja, y en otras, la replicación es bloqueada y la infección es abortada.

## 9. Capacidad de supervivencia

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

(i) endosporas

(ii) quistes

(iii) esclerocios

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

Los vectores adenovirales no forman estructuras de supervivencia

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los adenovirus pierden bioactividad a temperatura ambiente con caídas en los niveles en escala logarítmica y aunque los adenovirus sobreviven por largos periodos en las superficies ambientales y son resistentes a los desinfectantes lipídicos porque no tienen envoltura, los adenovirus son inactivados por calor y son susceptibles a diferentes agentes químicos como el hipoclorito sódico 1% y 2% de glutaraldehído, normalmente usados como desinfectantes. Una eliminación completamente efectiva se alcanza mediante el autoclavado a 121° C durante 15 minutos.

10.a) Vías de diseminación

Los adenovirus se transmiten de forma efectiva por contacto directo vía aerosoles contaminados y gotas de agua, e indirectamente vía contacto con objetos contaminados con secreciones respiratorias procedentes de una persona infectada. La dosis mínima infectiva de un adenovirus son 150 unidades formadoras de placa cuando se administra intra-nasalmente. Los adenovirus pueden también expandirse a través de la ruta fecal-oral.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Los factores que afectan a la diseminación de adenovirus incluyen la dosis administrada, la formación de aerosoles, y la proximidad de huéspedes no infectados susceptibles a sujetos inmunizados.

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 aplicable. Esta es el primer uso en España. Sin embargo, hay una notificación de liberación voluntaria de adenovirus simio recombinante con un serotipo diferente, ChAdV63 (B/ES/12/09).

**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)	<input type="checkbox"/>

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado esperado de las modificaciones genéticas descritas abajo es desarrollar un vector simio adenoviral recombinante defectivo para su replicación capaz de expresar los 3 antígenos del VRS: la proteína F de fusión delecionada de las regiones transmembrana y citoplasmáticas, la proteína N de la nucleocápside, y la proteína anti-terminación de transcripción, en células infectadas, y activar la respuesta inmune VRS antígeno específica en el huésped.  
Para la preparación del OMG, las secuencias codificantes del organismo parental que no se necesitan para la generación del OMG son sustituidas por un casete de expresión completo que contiene las secuencias de antígeno VRS y secuencias reguladoras adicionales que se necesitan para la expresión de proteínas como el promotor de citomegalovirus humano y la señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovino. El propósito de estas modificaciones genéticas es la preparación de un vehículo eficiente que suministre los antígenos VRS.

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

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

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En el OMG final se incluirán como secuencias genéticas el casete recombinante de expresión con los antígenos OMG y los genes para la cápside del OMG (hexón y fibra). Otros genes auxiliares serán usados solamente para el correcto empaquetamiento del OMG.	
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/> (plásmido que porta el transgen VRS)
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense): Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC según las siglas inglesas).	
b) Identidad del vector: El ADN del transgen VRS fue clonado en un vector vehículo (plásmido) bajo el control del promotor (HCMV citomegalovirus humano) con la secuencia TetO insertada por detrás de la caja TATA del promotor HCMV y de la señal de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovino (BGHPA por sus siglas en inglés). Técnicas de manipulación de ADN estándar en <i>E.coli</i> (clonación directa y recombinación homóloga) se usaron para clonar el genoma viral de ChAd155 en el Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC) y para modificar el vector plasmídico con el fin de introducir la delección de las regiones nativas E1 y E4 así como la introducción de la región Ad5E4orf6 mediante recombinación homóloga. El virus ChAd155-RSV resultante fue rescatado en una línea celular derivada de HEK293 expresando el represor Tet, denominada como Procell-92.S mediante transfección, y fue posteriormente amplificada mediante pases seriados. (Para una información detallada de los fragmentos constituyentes del vector, por favor referirse a la sección del IMPD S.1.2 y S.2.3).	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: No existen huéspedes identificados para ninguno de los plásmidos ya que son productos de clonaje que no están disponibles en el medio natural y no tienen capacidad de infectiva. <ul style="list-style-type: none"> <li>• El contenido genético de la construcción del plásmido VRS son los antígenos del virus respiratorio sincitial, y por lo tanto el hipotético huésped serían los humanos.</li> <li>• El vector ChAd155 codifica para el genoma adenoviral simio excepto para las regiones E1 y E4, tendría el mismo huésped que el tipo salvaje.</li> <li>• El vector Ad5E4orf6 tendría a los humanos como huésped potencial debido a su naturaleza adenoviral.</li> <li>• BAC es un constructo de ADN, basado en su plásmido de fertilidad funcional (o plásmido-F), usado para la transformación y clonación en bacteria, usualmente <i>E.coli</i>. Por lo tanto, <i>E.coli</i> sería su rango de huésped.</li> </ul>	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/> El gen de resistencia a kanamicina en el plásmido que contiene el casete del transgen, y el gen de resistencia a ampicilina en el vector BAC.

Otras, (especifíquense) casete de selección Amp-LacZ-SacB en el vector BAC

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

Un gen de resistencia a kanamicina se inserta en el plásmido del casete de expresión del transgen VRS. Sin embargo, tras la recombinación homóloga con el vector que contiene el genoma viral modificado de ChAd155, el gen de resistencia a kanamicina no está presente en el vector adenoviral recombinado.

Un casete de selección que incluye el gen suicida SacB, el gen de resistencia a ampicilina y lacZ (casete de selección Amp-LacZ-SacB) se inserta en el vector BAC durante el proceso. Sin embargo, este casete de selección Amp-LacZ-SacB se sustituye por el casete del transgen del VRS y por lo tanto no está presente en el OMG final.

e) Fragmentos constituyentes del vector

El fragmento de ADN insertado como transgen en el vector adenovirus de chimpancé (ChAd155) codifica las secuencias derivadas de las tres proteínas del VRS y contiene el promotor del HCMV con TetO insertado por debajo a la caja TATA del promotor HCMV para proporcionar el control de la transcripción del transgen en la línea celular empaquetadora. El genoma viral ChAd155 fue clonado en el vector BAC por recombinación homóloga, en la cepa *E.coli* BJ5183, entre el ADN viral ChAd155 y el vector BAC del subgrupo C. Las subsiguientes modificaciones genéticas fueron realizadas para la delección de E1 y E4 y el reemplazo del E4 nativo por el ORF 6 del adenovirus humano tipo 5 (Ad5). (Para una información detallada de los fragmentos constituyentes del vector, por favor referirse a la sección del IMPD S.1.2 y S.2.3).

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- |  |   |
|--|---|
| i) transformación                        | <input checked="" type="checkbox"/> recombinación homóloga en <i>E.coli</i> |
| ii) electroporación                      | <input checked="" type="checkbox"/>   |
| iii) macroinyección                      | <input type="checkbox"/>  |
| iv) microinyección                       | <input type="checkbox"/>  |
| v) infección                             | <input type="checkbox"/>  |
| vi) otros, (especifíquense) Transfección |   |

5. Si las respuestas a B. 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"/> |



6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El fragmento de ADN insertado como transgen en el vector de adenovirus de chimpancé (ChAd155) contiene:

- El transgen VRS contiene secuencias consenso de codón optimizadas de: F0ΔTM seguidas por un sitio 2A de corte de traducción y luego por las secuencias consenso N y M2-1 fusionadas por una secuencia de unión flexible (N-M2-1). El transgen VRS está bajo el control transcripcional del promotor del citomegalovirus humano (HCMV) y la señal de poli-adenilación de la hormona de crecimiento bovino (BGHpA). La construcción contiene la región 2A del aftavirus del virus de la enfermedad pie y boca entre la proteína F soluble F0ΔTM y los otros dos antígenos VRS, que media el procesamiento de la poliproteína mediante un efecto de traducción denominado salto ribosomal (Donnelly et al. 2001). Después de la transfección en células de mamífero, el corte tiene lugar y la proteína F soluble se detecta en el sobrenadante del cultivo celular como se esperaba. La proteína N-M2-1 de fusión es en cambio expresada y detectada en la fracción intracelular;
- promotor fuerte del citomegalovirus humano (HCMV);
- señal de poli-adenilación de la hormona de crecimiento bovino (BGHpA), que es una secuencia especializada de terminación para la expresión de proteínas en células eucariotas;
- secuencia del operador del operón tetraciclina (TetO) localizada downstream al promotor del transgen HCMV en la construcción viral que actúa como un represor de la expresión del transgen;
- ARNss VAI y VAII;
- genes estructurales del adenovirus, fibra y hexón.

El fragmento de ADN insertado como transgen del VRS en el vector de adenovirus de chimpancé (ChAd155) codifica secuencias derivadas de tres proteínas del VRS: proteína F de fusión delecionada en la región transmembrana (F0DTM or F0ΔTM, 528 aminoácidos), la proteína N de nucleocápside y la proteína de anti-terminación de la transcripción (M2-1). La proteína F se expresa como una proteína única, mientras que las proteínas N y M2-1 se expresan como una proteína de fusión (N-M2-1, 594 aminoácidos).

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

Ver arriba.

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

- Ambas secuencias del promotor del CMV y la poliadenilación de la hormona de crecimiento bovino promueven la expresión del gen de interés, permitiendo el reconocimiento por la ARN polimerasa para la transcripción, incrementando la estabilidad de las moléculas de ARNm sintetizadas.
- La secuencia del operador del operón tetraciclina (TetO) insertada downstream del promotor del transgen del CMV en la construcción viral se pretende que ayude a la represión de la expresión del transgen durante la propagación viral. El control de la transcripción es reversible, y en el huésped donde no hay expresión de la proteína represora, el promotor del HCMV no está bloqueado y la transcripción normal del transgen continúa.
- ARNs VAI y VAII: son alrededor de 160 nucleótidos, que no se traducen pero regulan la traducción de ARNm virales.
- Los genes estructurales adenovirales de la fibra y hexón que constituirán la cápside viral.

Racional para la selección de antígenos para la vacuna:

- La proteína de fusión (F) deletada en las regiones transmembrana y citoplasmática (F0ΔTM). La proteína F es el principal antígeno de superficie del virus VRS que está bien conservado entre los subgrupos VRS-A y VRS-B. Además, es la principal diana de la respuesta de anticuerpos neutralizantes contra el VRS, que se considera esencial para la protección contra la enfermedad severa asociada al VRS (Magro et al. 2012).
- La proteína (N) de la nucleocápside es un antígeno interno (no expuesto), altamente conservados entre las cepas de VRS y conocida por ser una fuente de muchos epítomos de células T (Anderson, Huang, and Langley 2010; Townsend and Skehel 1984). La proteína N es esencial para la replicación y transcripción del genoma del VRS. Su función primaria es la encapsidación del genoma viral protegiéndolo de las ribonucleasas.
- La proteína de matriz (M2-1) es un factor de anti-terminación de la transcripción que es importante para la síntesis eficiente de los ARN mensajero de secuencia completa, que son característicos de los ARN virus de cadena negativa no segmentados. M2-1 es un antígeno interno (no expuesto), altamente conservado entre cepas de VRS y conocido por ser una fuente de muchos epítomos de células T (Anderson, Huang, and Langley 2010; Townsend and Skehel 1984).

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

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros (especifíquense): integrado en el genoma del adenovirus reemplazando parte del genoma del organismo parental.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

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

La siguiente información está relacionada con el organismo al que pertenece el transgen insertado (proteínas F, N y M2-1), es decir, el virus respiratorio sincitial humano (VRS).

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): <a href="#">Mononegvirales</a>
ii) Familia (plantas): <a href="#">Paramyxoviridae</a>
iii) Género: <a href="#">Pneumovirus</a>
iv) Especie: <a href="#">humano</a>
v) Subespecie: --
vi) Cepa: --
vii) Cultivar/línea de reproducción: ----
viii) Patovar: --
ix) Nombre vulgar: <a href="#">Virus Respiratorio Sincitial (VRS)</a>

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input checked="" type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?

Sí

No

No se sabe

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

VRS es un patógeno humano altamente contagioso que causa infecciones de las vías respiratorias en personas de todas las edades. Durante el primer año de vida, el 50-70% de los niños son infectados con VRS y básicamente todos los niños han tenido una infección de VRS en su segundo año de vida. El riesgo de una infección grave de las vías respiratorias bajas asociada al VRS es alto en niños por debajo de los 6 meses de edad y es una causa principal de hospitalización. Aunque los ratios de hospitalización por VRS descienden sustancialmente tras los 6 meses de edad, un considerable número de infecciones de VRS en niños de 6-15 años de edad, conduce aún a bronquiolitis o (bronco)neumonía requiriendo atención médica (Fisher et al. 1997). Una infección previa con VRS no previene infecciones subsiguientes. Por lo tanto, la re-infección con VRS ocurre a lo largo de la vida del individuo y es común en todos los grupos de edad (Krilov 2011; Simoes 1999). Estas re-infecciones generalmente cursan sin diagnosticar porque se presentan normalmente como una infección aguda común de las vías respiratorias superiores. En personas más vulnerables (por ej. sujetos inmunocomprometidos o ancianos) las re-infecciones pueden sin embargo también conducir a una enfermedad grave (Graham 2011).

Los antígenos VRS usados en el OMG corresponden a tres proteínas del VRS : la proteína (F) de fusión delecionada en las regiones transmembrana y citoplasmática (F0ΔTM), la proteína de nucleocápside (N) y la proteína anti-terminadora de transcripción (M2-1).

La proteína F de VRS es un antígeno principal de superficie y media la fusión viral a las células diana. La proteína F es un conocido antígeno protector, que está altamente conservado entre los subgrupos y cepas de VRS. La proteína F es una diana de los anticuerpos neutralizantes, incluyendo el anticuerpo monoclonal neutralizante del VRS Synagis. Es considerado esencial para la protección contra la enfermedad grave asociada al VRS (Magro et al. 2012). La deleción de la región transmembrana y el tallo citoplasmático permite la secreción de la proteína F0ΔTM. La proteína N es un antígeno interno (no-expuesto), altamente conservado entre cepas de VRS y se conoce por ser una fuente de muchos epítomos de células T (Townsend and Skehel 1984). La proteína N es esencial para la replicación y transcripción del genoma de VRS. La función principal de la proteína N es la encapsidación del genoma viral con el fin de la transcripción del ARN, replicación y empaquetamiento y le protege de las ribonucleasas.

La proteína M2-1 es un factor de anti-terminación de la transcripción que es importante para la síntesis eficiente de los ARN mensajeros de secuencia completa, así como para la síntesis de los ARNm de lectura policistronica, que son característicos de virus ARN de cadena negativa no segmentado. M2-1 es un antígeno interno (no-expuesto) que está altamente conservado entre cepas VRS y conocido por ser fuente de muchos epítomos de células T (Townsend and Skehel 1984).

Los antígenos N y M2-1 son incluidos en el OMG como fuente de epítomos de células T para la inducción de la inmunidad celular en el contexto del ensayo clínico donde tendrá lugar su liberación.

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio

ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese: En términos de clasificación de riesgo, el Virus Respiratorio Sincitial es considerado como un agente biológico del grupo 2 según la clasificación de la Comunidad Económica Europea para la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados a la exposición a agentes biológicos (Directiva 2000/54/EC). La designación de grupo 2 aplica a agentes que pueden causar enfermedades en el hombre y pueden ser un riesgo para los trabajadores, que no es probable que se propague a la comunidad y para los cuales hay normalmente una profilaxis efectiva o tratamiento disponible.	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

## E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
El OMG tendrá una supervivencia o estabilidad comparable con el virus de tipo salvaje. El organismo modificado genéticamente es defectivo para su replicación (regiones E1 E4 delecionadas). El OMG entrará en una célula y permanecerá de forma epicromosomal evitando así el riesgo de integración del ADN viral en el genoma huésped tras la infección de las células huéspedes. El OMG no puede replicarse y al ser no integrativo, sólo las proteínas pueden pasar de una célula a otra debido al efecto bystander.		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		
El OMG final es un virus recombinante, completamente deficiente para la replicación debido a la sustitución de los genes adenovirales por el casete de expresión para los antígenos VRS humano.		
c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		
Como el OMG no puede replicar, la diseminación del organismo se limita a la administración de los OMG a los pacientes en el estudio clínico.		
d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Ver sección A.3.(c ). Específicamente para este OMG, su genoma se ha construido mediante ADN recombinante en el laboratorio a través de un plásmido. En concreto, el genoma de este OMG es un ADN recombinante fabricado en laboratorio a través de un plásmido de ADN. El casete de expresión génica contenido en el plásmido se analiza varias veces durante el proceso de fabricación con diferentes pruebas para evaluar su identidad (Q-PCR, secuenciación de ADN y análisis de restricción). Teniendo en cuenta que el OMG contiene el genoma del plásmido utilizado para su producción y no puede replicarse, se considera genéticamente estable.
--

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
<p>El OMG es deficiente para su replicación y no es considerado patogénico para el huésped o los organismos no diana.</p>		
<p>En caso afirmativo:</p>		
<p>b) ¿Para cuál de los organismos siguientes?</p>	<p>Humanos</p> <p>animales</p> <p>plantas</p> <p>otros</p>	<p><input type="checkbox"/></p> <p><input type="checkbox"/></p> <p><input type="checkbox"/></p> <p><input type="checkbox"/></p>
<p>b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A</p> <p>Para información relevante especificada bajo el Anexo III A punto II(A)(11)(d), referirse a las secciones B.7.(b) y D.3.(b).</p> <p>No se espera que el OMG tenga ningún efecto tóxico o alérgico. Como con todas las vacunas inyectables, las reacciones alérgicas inmediatas sistémicas a la vacunación pueden tener lugar. Estas son sin embargo muy poco comunes y se estima que ocurren de una vez por cada 450.000 a una vez por cada 1.000.000 vacunaciones para vacunas que no contienen alérgenos como gelatina o la proteína de huevo (Zent et al. 2002). Durante este estudio, los niños a lo largo de todas las etapas permanecen bajo observación (seguimiento visual así como determinaciones de los signos vitales) en el centro del estudio durante al menos 60 minutos tras la vacunación.</p> <p>El estudio propuesto es llevado a cabo en niños VRS-seropositivos quienes se asume que han sido previamente infectados con VRS y por tanto sin riesgo de una enfermedad potenciada del VRS. La vacunación intramuscular desencadena normalmente una reacción inflamatoria transitoria y auto-limitante. Ésta puede incluir típicamente, enrojecimiento, hinchazón y sensibilidad. La mayoría de los síntomas sistémicos observados en un ensayo clínico con un producto similar llevado a cabo en adultos sanos (vacuna basada en adenovirus de chimpancé con ChAd3 como vector para la vacunación contra la hepatitis C) a las dosis que se usan en este ensayo clínico no excedieron de intensidad leve (clinical study HCV001, EudraCT Number: 2007-004259-12). Fatiga, dolor de cabeza y malestar fueron los acontecimientos adversos sistémicos globales más comúnmente reportados.</p> <p>Debido a la falta de datos en sujetos humanos hasta la fecha, no hay información disponible sobre los acontecimientos adversos tras la administración de la vacuna ChAd155-RSV en desarrollo. Sin embargo, en estudios fase I de Ébola en adultos investigando una vacuna con un vector simio adenoviral similar (ChAd3-EBO-Z), fueron observados descensos transitorios en el conteo de trombocitos. Estos descensos tuvieron lugar en su mayoría en el Día 1 tras la vacunación y volvieron al nivel basal normalmente para el Día 7.</p>		

Aunque la mayoría de estos descensos permanecieron dentro de los rangos normales, el criterio por protocolo de trombocitopenia (es decir, conteo de trombocitos  $< 150 \times 10^3/\mu\text{L}$ ) se alcanzó para 2.6% (7 de 270) de los sujetos vacunados. Ninguno de estos descensos en el conteo de trombocitos o los casos de trombocitopenia fueron clínicamente significativos (es decir, no se reportó para ninguno de los sujetos signos clínicos o síntomas sugestivos de una tendencia aumentada para el sangrado). Aunque el mecanismo que subyace a estos descensos actualmente sigue sin clarificar, está bien descrito en la literatura que, tras la administración intravenosa, los adenovirus activan las plaquetas e inducen la formación de agregados de leucocitos-plaquetas, causando un incremento asociado en micropartículas derivadas de plaquetas y leucocitos (Othman et al. 2007; Stone et al. 2007).

Todos los datos no clínicos disponibles sugieren que la vacuna ChAd155-RSV en desarrollo tiene perfiles de inmunogenicidad, eficacia, biodistribución, y tolerabilidad/toxicidad aceptable para llevar a cabo el ensayo clínico.

Aunque los adenovirus humanos pueden causar más infecciones en niños y en población inmunocomprometida, ChAd155-RSV es deficiente para su replicación y procede de una especie de chimpancé, y por lo tanto se considera que no es patogénico. Más aún, se tomarán precauciones extremas durante la selección de pacientes, de forma que los niños con cualquier condición de inmunodeficiencia o inmunosupresión confirmada o sospechada o que presenten cualquier condición médica que según el juicio del investigador pudiera hacer que la inyección del OMG no fuera segura, serán excluidos del estudio.

Además, el OMG no presenta riesgo de integración o activación de provirus latentes. Ya que su replicación es deficiente, el OMG no se espera que muestre capacidad de colonización. Se ha detectado así mismo que no hay probabilidad de generación de ACR como se ha evaluado en diferentes etapas del proceso de producción de la vacuna.

Finalmente, no se expresan genes de resistencia a antibióticos en el OMG excluyendo patrones de resistencia a antibióticos.

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

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

El OMG puede detectarse usando PCR con secuencias generales del adenovirus simio o específicas para el serotipo 155 de análisis. También puede ser detectados mediante un ensayo inmunocitoquímico con un anticuerpo anti-hexón que ha mostrado reactividad contra la proteína del hexón de ChAd155.

##### b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Igual que en el apartado 4.a.



## F. Información sobre la liberación

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

La liberación será la administración del producto, en habitaciones del hospital, por inyección intramuscular a los pacientes, como parte de un estudio clínico internacional multicéntrico. El ensayo clínico es un ensayo fase I/II que se realizará en niños VRS -seropositivos con una edad de entre 12 y 17 meses.

El OMG ChAd155-RSV se ha desarrollado como vacuna preventiva en desarrollo para la inmunización activa de niños para la prevención de cualquier infección de las vías respiratorias bajas (bronquiolitis y [bronco]neumonía) asociadas con el VRS (subtipos A y B). La vacuna en desarrollo ChAd155-RSV será administrada a 48 sujetos en total. Como control, 48 sujetos serán vacunados con placebo. El propósito de este ensayo es evaluar la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad de esta vacuna en desarrollo de VRS cuando se administra por primera vez a través de inyección intramuscular de acuerdo a un calendario en dos dosis separadas un mes. La duración del estudio será aproximadamente de 16 meses.

La liberación se llevará a cabo por personal especializado y entrenado. Las instrucciones detalladas de cómo prevenir la contaminación por la vacuna serán proporcionadas a todo el personal implicado en el manejo de este producto.

El manejo de esta vacuna de estudio sigue las prácticas de trabajo para un contaminante de nivel de bioseguridad 1 (Grupo de riesgo 1).

Como la vacuna de estudio es parte del OMG, se harán todos los esfuerzos para evitar la contaminación del medioambiente así como de cualquier fármaco (aún cuando el vector adenoviral es no replicativo y sin riesgo de producir enfermedad para los humanos). Por lo tanto:

- El personal usará guantes y ropa protectora durante el manejo de la vacuna del estudio.
- La vacuna se preparará en una cabina de seguridad biológica tipo 2 (de flujo vertical para la protección completa del medioambiente y el personal del hospital) que debe ser descontaminada antes y después de la manipulación con una solución al 1% de hipoclorito sódico o equivalente. Con el fin de medir el volumen correcto de la vacuna en la jeringa, se introducirá una aguja en las jeringas y la jeringa se sujetará verticalmente. Se le darán toques suavemente a la jeringa para llevar hacia arriba todas las burbujas de aire. El exceso de volumen se expulsará junto con cualquier burbuja remanente de aire en un papel absorbente que se haya tratado previamente con un solución al 1% de hipoclorito sódico o equivalente, de forma que un volumen de 0.5mL quede en la jeringa. El papel absorbente debe eliminarse en el contenedor de residuos biopeligrosos.
- La jeringa se introducirá entonces en un contenedor rígido sellado (para prevenir derrames) para ser transferido a la habitación del hospital para la administración, marcado con el símbolo de biopeligroso y la frase “CONTIENE OMG”.
- Tras la administración de la vacuna, todos los viales vacíos de la vacuna, agujas y jeringas se eliminarán en el contenedor de residuos biopeligrosos, después de que se complete la preparación de la vacuna para cada sujeto. Mantener el envase secundario de la vacuna para su contabilización por el

monitor.

- Tras cada vacunación, el sitio de la inyección será cubierto con una gasa con el fin de absorber cualquier virus que se haya podido derramar a través del de la aguja de inyección. Pasados 30 minutos, la gasa será tratada con una solución de hipoclorito sódico al 1% y luego será eliminada en el contenedor de residuos biopeligrosos.

Los centros seguirán los procedimientos de sus instituciones para la eliminación del material biopeligroso.

No se esperan beneficios significativos para el medioambiente tras la liberación del OMG en este ensayo clínico.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

Los adenovirus simios no se encuentran de forma natural en el medioambiente de la localización geográfica que rodea a los centros del estudio donde tendrá lugar la administración del OMG ChAd155-RSV.

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

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

ChAd155-RSV será administrado en los siguientes centros hospitalarios

- Paseo de la Castellana 261, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Madrid, España, 28046.
- C/ Travesía da Choupana s/n, Servicio de Críticos, Intermedios y Urgencias Pedi, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España, 15706.
- Av. Cataluña 21, Area de Vacunas, Centro de Investigación en Salud Pública, Valencia, España, 46020.
- Avinguda Fernando Abril Martorell, 106, Hospital Universitari i Politecnic La Fe, Valencia, España, 46026.

Unidad de Neonatología, Río Júcar s/n, Hospital de Mostoles, Móstoles/Madrid, España, 28935.

b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):

- (i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): No se requiere un área específica para esta liberación. La liberación del OMG tendrá lugar en un hospital de tamaño estándar designado dentro de cada una de las instituciones clínicas designadas.
- (ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): No se requiere un área específica para el centro.

La vacuna del estudio debe almacenarse a las condiciones de almacenamiento indicadas en la etiqueta en un sitio seguro y cerrado. El espacio de almacenamiento que se usará para los medicamentos de investigación debe ser claramente delimitado y separado físicamente de todos los demás fármacos, muestras/artículos contenidos en el almacén. El acceso al equipo de almacenamiento (frigorífico/cámara fría/congelador) debe estar restringido a

personal autorizado. El OMG se transportará de su sitio de almacenamiento a la habitación del hospital para la administración del paciente en contenedores rígidos, sellados y marcados con el símbolo de biopeligroso y la frase “CONTIENE OMG”, para asegurarse que la probabilidad de un derrame accidental se reduce al mínimo.

Las superficies ambientales y dispositivos médicos deben limpiarse rutinariamente con un desinfectante hospitalario. Todos y cada uno de los residuos deben eliminarse de acuerdo a los procedimientos locales para residuos biopeligrosos.

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

La liberación tendrá lugar durante el ensayo clínico realizado en ámbito hospitalario.

Paseo de la Castellana 261, Hospital Universitario La Paz, Madrid, Madrid, España, 28046	A 12 km del hospital se localiza el Monte de El Pardo, área protegida que figura como Área de Protección Especial Natura 2000 (Dir. 79/409 EEC) ES0000011. Así mismo está próximo a otras zonas verdes (Monte de la Zarzuela, Dehesa de la Villa y Casa de Campo).
C/ Travesía da Choupana s/n, Servicio de Críticos, Intermedios y Urgencias Pedi, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España, 15706.	No se localizan áreas protegidas a 50 km de la capital.
Av. Cataluña 21, Área de Vacunas, Centro de Investigación en Salud Pública, Valencia, España, 46020	La Albufera de Valencia se encuentra a 10 km del centro de Valencia.
Avinguda Fernando Abril Martorell, 106, Hospital Universitari i Politecnic La Fe, Valencia, España, 46026	La Albufera de Valencia se encuentra a 10 km del centro de Valencia.
Unidad de Neonatología, Río Júcar s/n, Hospital de Mostoles, Móstoles/Madrid, Spain, 28935	A 60 km se encuentra la reserva del Regajal-Mar de Ontígola en la ciudad de Aranjuez. Declarada como reserva natural en 1994.

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

El tipo salvaje así como el virus recombinante pueden infectar células de mamífero, pero no células vegetales.

Por otra parte, se espera que haya una liberación limitada del OMG en las aguas residuales después de la administración a los pacientes. Debido a la incapacidad de replicación del OMG, no se espera interacción del OMG con la flora, fauna, ganado o especies migratorias.

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

##### a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

En este estudio se evaluará un régimen de vacunación basado en dos inyecciones intramusculares (en el deltoides [si el tamaño del músculo es adecuado; de otra forma, las inyecciones deben realizarse en el muslo anterolateral]) de  $5 \times 10^9$ ,  $1.5 \times 10^{10}$ , o  $5 \times 10^{10}$  partículas virales (pv) de la vacuna ChAd155-RSV administrada de acuerdo a un calendario de dos dosis separados 1 mes (4 semanas de intervalo entre vacunaciones).

La vacuna ChAd155-RSV en desarrollo se administrará a 48 sujetos en total, 16 recibirán una dosis de  $5 \times 10^9$  (0.5ml), otros 16 pacientes recibirán  $1.5 \times 10^{10}$  (0.15ml), y los últimos 16 una dosis de  $5 \times 10^{10}$  (0.5ml) pv de la vacuna del OMG. La vacunación se limitará a un máximo de 10 niños cada día. En el mismo centro, los niños se vacunarán secuencialmente, separados por un intervalo mínimo de 60 minutos para permitir la monitorización de cualquier evento agudo (por ej. reacción de hipersensibilidad).

En total, se estima que se administren en este estudio (en todos los países implicados)  $22.4 \times 10^{11}$  pv, correspondientes a un máximo un 96 viales (incluyendo los pacientes previstos para solventar los fallos de selección). Teniendo en cuenta las formulaciones que son  $5 \times 10^9$  (en 0.5ml) o  $5 \times 10^{10}$  (en 0.5ml), la liberación esperada serán  $33.6 \times 10^{11}$  pv.

##### b) Duración de la operación:

En cada vacunación se tardan unos pocos minutos. El periodo de reclutamiento (y administración de ChAd155-RSV) de los 48 participantes se estima que sea más un año. Para cada sujeto, la totalidad del estudio dura aproximadamente 12 meses.

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

El OMG se destina para su uso clínico solamente de acuerdo al suministro del protocolo clínico. La cantidad del ChAd155-RSV suministrado al centro en un momento dado se limita a la necesaria para la administración de los pacientes y el acceso al producto está restringido al personal autorizado.

Los viales serán importados desde Bélgica y almacenados en congeladores a  $< -60^\circ\text{C}$  en el centro hasta su uso.

El OMG es proporcionado a los centros en viales sellados que están apropiadamente etiquetados y empaquetados. La preparación y administración del producto se realizará por personal entrenado, bajo la responsabilidad del investigador, de acuerdo a un protocolo clínico y respetando las normas de Buenas Prácticas Clínicas. Por favor, ver sección F.1 para las medidas detalladas tomadas para el manejo de la vacuna.

Se señala que la punción con la aguja del vial taponado que contiene el vector viral es una fuente potencial de aerosoles. Por lo tanto, la preparación del producto se realiza en una cabina de seguridad biológica tipo 2. La cabina se descontaminará antes y después de cada manipulación con una solución al 1% de hipoclorito sódico. Todos los transportes de la preparación del OMG deben realizarse usando un contenedor sellado (para evitar derrames) claramente etiquetado con el símbolo de biopeligroso y "contiene OMG". Más aún, los empleados seguirán la política del hospital recomendada para el manejo de riesgos biológicos.

También, después de cada vacunación, el sitio de la inyección será cubierto con una gasa con el fin de absorber cualquier virus que se haya podido derramar a través de la aguja de inyección. Pasados 30 minutos, la gasa será tratada con una solución de hipoclorito sódico al 1% y luego será eliminada en el contenedor de residuos biopeligrosos.

Cualquier material contaminado será retirado de la habitación y mantenido en contenedores sellados o en bolsas especiales que estén claramente etiquetadas como residuo médico biopeligroso. Algunas instituciones pueden requerir que los residuos biopeligrosos sean destruidos separadamente de otros residuos de laboratorios de Virología.

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

No aplicable. Todas las administraciones del OMG se realizarán en habitaciones convencionales de hospital en las instituciones listadas.

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

El mismo OMG está siendo usado actualmente en el primer ensayo Fase I en individuos adultos sanos de 18 a 45 años de edad (estudio 201974 [RSV PED-001]) en el Reino Unido. En el Reino Unido, el uso del OMG se ha listado como uso confinado.

RSV PED-001 es un estudio fase I, controlado, randomizado, ciego para el observador que tiene como objetivo evaluar la seguridad, reactogenicidad e inmunogenicidad de la vacuna ChAd155-RSV, cuando es administrado intramuscularmente de acuerdo a un calendario en dos dosis separadas un mes en adultos sanos de entre 18 y 45 años de edad. El ensayo RSV- PED-001 se está realizando actualmente con un diseño estratificado en 3 pasos de forma similar al presente estudio (RSV PED-002). Los sujetos en el estudio RSV PED-001 recibirán un régimen de vacunación basado en 2 inyecciones intramusculares de  $5 \times 10^9$  o  $5 \times 10^{10}$  partículas virales. Como controles se usan placebo y una vacuna contra la meningitis del serogrupo B (Bexsero). El reclutamiento está todavía en marcha en la fecha de redacción de este documento.

Hasta la fecha, varios ensayos clínicos se han terminado o están en marcha con vacunas basadas en adenovirus de chimpancé con vectores similares al ChAd155. El calendario de inmunización basado en dos inyecciones intramusculares de la misma vacuna basada en adeno de chimpancé se ha evaluado en los ensayos clínicos HCV001 (con el vector ChAd3) y RSV001 (con el vector PanAd3) para la vacunación contra la hepatitis C y las infecciones del VRS respectivamente. Varios estudios Fase I se han realizado con una vacuna basada en ChAd3 contra el Ébola (ChAd3-EBOZ). La vacuna en desarrollo está siendo evaluada actualmente aún más en estudios fase II. Actualmente no hay riesgos asociados conocidos con ChAd3-EBO-Z que pudieran impedir el desarrollo posterior. Hasta la fecha, se han usado tres adenovirus simios diferentes en ensayos clínicos:

- El ChAd63 adenovirus (Biswas et al. 2011) pertenece al serotipo E E (Colloca et al. 2012) y ha sido usado principalmente en ensayos de malaria trials (de Barra et al. 2014; Hodgson et al. 2015; O'Hara et al. 2012; Sheehy

et al. 2011) donde más de un millar de voluntarios sanos han sido vacunados incluyendo bebés de dos meses de edad.

- Los adenovirus ChAd3 (Peruzzi et al. 2009) y PanAd3 (Vitelli et al. 2013) pertenecen al serotipo C (Colloca et al. 2012) y han sido usados en ensayos del Virus de Hepatitis C y Ébola virus con más de 1500 vacunados y en un ensayo clínico reciente de fase I con VRS reclutando 42 voluntarios.

Todos los vectores adenovirales de simio testados hasta la fecha en ensayos clínicos (es decir ChAd63 PanAd3 y ChAd3) muestran perfiles de seguridad aceptables en las poblaciones de estudio sin reportarse acontecimientos adversos graves relacionados (Colloca et al. 2012; Colloca and Folgori 2013; de Barra et al. 2014; Hodgson et al. 2015; Ledgerwood, Sullivan, and Graham 2015; O'Hara et al. 2012; Sheehy et al. 2011).

En concreto, una vacuna de VRS similar basada en un vector adenoviral simio con el mismo inserto que la vacuna en desarrollo ChAd155-RSV (PanAd3-RSV) se ha usado previamente en humanos (ensayo RSV001). 42 sujetos sanos recibieron la vacuna PanAd3-RSV al menos una vez durante el ensayo RSV001. Este estudio evaluó diferentes regímenes de sensibilización/refuerzo de vacunas de VRS basadas en vectores adenovirales incluyendo un refuerzo heterólogo (con una vacuna de RSV de un vector recombinante del virus vaccinia Ankara modificado) y sensibilización por administración intranasal. En el estudio RSV001, no hubo acontecimientos adversos clínicamente significativos hasta la semana 28. Sin embargo, una bajada transitoria de la hemoglobina, el recuento total de glóbulos blancos y de neutrófilos fue observado tras la vacunación. El acontecimiento adverso más comúnmente reportado implicaba a las reacciones en el sitio de inyección. La mayoría de acontecimientos adversos ocurridos en la semana de la vacunación se resolvieron en unos pocos días. No hubo acontecimientos adversos que se consideraran relacionados con la vacuna. Dos acontecimientos adversos graves fueron reportados (serológicamente confirmados tifus de los matorrales y parálisis flácida hipnopómpico con alucinaciones visuales); ninguno fue considerado relacionado con la vacuna.

Se espera que el ChA155-RSV refleje la experiencia clínica previa con vectores estrechamente relacionados.

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

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

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

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

El OMG ChAd155-RSV es una vacuna basada en un vector viral recombinante en el que se ha insertado el código que codifica para los antígenos del VRS con el fin de estimular la respuesta inmune humoral y celular en el hospedador. La inmunidad inducida de forma natural por el virus VRS no previene la re-infección, y éstas son frecuentes a lo largo de la vida. El OMG ChAd155-RSV se considera una solución adecuada para la inducción de una respuesta inmune efectiva y equilibrada de la respuesta inmune contra el virus VRS en población nativa. El OMG ChAd155-RSV codifica para tres proteínas del VRS que desencadenan la respuesta inmune en el hospedador:

- La proteína de fusión (F) delecionada en las regiones transmembrana y citoplasmática (F0ΔTM), que es el mayor antígeno de superficie del VRS, y se considera esencial para la protección frente a la presentación grave de la enfermedad por VRS (Magro, Mas et al. 2012).
- La proteína de la nucleocápside (N), que es esencial para la replicación y la transcripción del genoma del VRS. Es un antígeno interno (no expuesto), altamente conservado en las especies del VRS, fuente de epítomos de las células T (Anderson, Huang, and Langley 2010; Townsend and Skehel 1984).
- La proteína de la matriz (M2-1) es un factor anti-terminación de la transcripción, que es importante para la síntesis eficiente de algunas moléculas de ARN en concreto. M2-1 es un antígeno interno (no expuesto), muy conservado entre las diferentes especies del VRS, que también actúa

como fuente de epítomos de las células T (Anderson, Huang, and Langley 2010; Townsend and Skehel 1984).

Los antígenos N y M2-1 se incluyen en la vacuna como fuente de epítomos de células T para la inducción de la inmunidad celular.

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

La posibilidad de interacción con otras especies es mínima bajo las condiciones de liberación del OMG. Como se menciona en la sección F, el OMG se administrará a los sujetos en el hospital, y es poco probable que entre en contacto con organismos no diana del ecosistema.

En la sección G.5 se incluyen más detalles en relación a la interacción con especies no diana.

En relación a la interacción con otros microorganismos, los genes virales pueden ser intercambiados entre el OMG y especies no recombinantes de adenovirus en el caso de que células susceptibles sean infectadas simultáneamente por el OMG y un adenovirus de simio tipo salvaje, que es altamente improbable. Aunque la transmisión de los adenovirus entre especies, particularmente entre humanos y primates no humanos no ha sido demostrado, la transmisión horizontal de estos virus entre humanos y primates no humanos tiene más probabilidad de ocurrir en lugares donde hay un contacto físico estrecho entre estas especies, como en zoológicos o en instalaciones animales (Wevers et al. 2011).

La transferencia genética se ve también limitada por las características fenotípicas del vector ChAd155-RSV, que es defectivo en replicación y por tanto no patogénico.

Además, la información genética incluida en el vector ChAd155 permanece epicromosomal en las células infectadas, eliminando el riesgo de que el ADN viral se integre en el genoma del hospedador.

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: En comparación con el adenovirus de simio parental, el OMG se ha modificado para ser defectivo en replicación, y no hay evidencias para creer que la integración de transgenes del VRS en el OMG puede promover la selección post-liberación que incremente la invasividad del virus. Los plásmidos utilizados para la construcción del OMG (el ChAd155 VRS) poseen genes de resistencia a antibióticos (ampicilina y kanamicina). Sin embargo, el OMG final no incorpora estos genes de resistencia a antibióticos.		

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

La liberación del OMG propuesta en esta solicitud, en la que el OMG se administra a los sujetos en un hospital, hace que sea muy poco probable que se produzca un contacto del OMG con organismos no diana del ecosistema.

La probabilidad de que el ChAd155 VRS sea persistente o invasivo en hábitats naturales es baja debido a las siguientes razones:



- El vector ChAd155 que se pretende utilizar en este estudio clínico es deficiente para la replicación, y solamente es capaz de transducir células animales. Además, el genoma del adenovector permanece en localización epicromosómica, evitando el riesgo de integración del virus de ADN en el genoma del hospedador después de la infección de las células hospedadoras (Feuerbach and Crystal 1996).
- El riesgo de que se genere un adenovirus competente para la replicación (ACR) tras la recombinación homóloga, entre el vector viral ChAd155 y la región E1 del Adenovirus 5 humano (Ad5), en la célula hospedadora se considera muy baja, debido a la falta de secuencias homólogas entre las regiones flanqueantes de la región E1 del Ad5 y del Adenovirus de chimpancé. Se ha demostrado que la recombinación y producción de ACR no ocurre cuando se propagan en cultivos celulares HEK-293 (Colloca and Folgori 2013), eliminando el problema de producción de ACR durante la fabricación del adenovector. Para controlar este proceso, durante la fabricación de la sustancia activa de la vacuna se controla la presencia de ACR en diferentes fases del proceso productivo.
- El ChAd155-RSV no es capaz de sobrevivir fuera de las células del hospedador animal, dado que es defectivo en replicación.
- Existe la posibilidad teórica de que se liberen partículas infecciosas al medio ambiente y a la población durante la liberación propuesta. Los adenovirus recombinados defectivos se han utilizado ampliamente en estudios clínicos, administrándose directamente o utilizando estrategias de terapia celular (contenidos en células que son administradas). La mayoría de los estudios no han detectado liberación del virus en las muestras biológicas (esputo, saliva, orina, heces), y si se han detectado en orina o saliva, el virus desaparece a los pocos días de la administración. En el estudio propuesto, se tomarán medidas para minimizar la diseminación y la transmisión no deseada del virus (por ejemplo, mediante el uso de desinfectantes). Además, después de la vacunación, el sitio de inyección se cubrirá con una gasa para que absorba los virus que quedan como residuo procedente de la aguja de la jeringa. La gasa se retirará después de 30 minutos y se desechará en la basura correspondiente que se somete a autoclavado o cualquier otro procedimiento que asegure su correcta eliminación, en línea con las recomendaciones de las guías de la Unión Europea a este respecto.

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:

No aplica. Sin embargo, la posibilidad de que el personal de hospital se inyecte la vacuna de forma accidental puede ocurrir. La administración de la vacuna la realizará personal médico entrenado, por lo que este riesgo es mínimo. La transmisión del virus a los miembros de su familia se considera igualmente poco probable. De hecho, el sitio de inyección se cubre con una gasa para que absorba los restos de virus que pudieran quedar provenientes de la aguja. La gasa se descontaminará y eliminará adecuadamente (detalles en la sección J.1.)

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Muy poco probable por las mismas razones descritas en la sección G.3. Sin embargo, no puede ser excluido.
b) De otros organismos al OMG: Muy poco probable por las mismas razones descritas en la sección G.3. Sin embargo, no puede ser excluido.
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: No hay datos disponibles. Sin embargo, los estudios de toxicidad descartan efectos tóxicos o patogénicos derivados de OMG. La transferencia genética no ofrece ventajas ni desventajas al organismo receptor.

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.

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

No aplica.

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

Los adenovirus recombinantes defectivos han sido ampliamente utilizados en estudios clínicos, y se han administrado directamente o mediante estrategias relacionadas con terapia celular (en el interior de una célula). La mayoría de los estudios realizados no ha detectado liberación de virus en muestras biológicas (esputo, saliva, orina, heces), y solo alguno de los estudios detectan el OMG en orina o saliva, que normalmente no puede detectarse transcurridos dos días tras la administración. El OMG se administrará mediante inyección por vía intramuscular (IM). Esta ruta de administración en los estudios en animales demuestra una liberación y diseminación del virus a otros tejidos limitada, y el vector viral tiende a permanecer en el sitio de inyección. La distribución y persistencia del ChAd155-RSV hasta 70 días post-administración se ha estudiado en un estudio de biodistribución en ratas (estudio realizado bajo Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)). En este estudio, el ChAd155-RSV fue indetectable en cerebro, corazón, riñón, pulmón, ovario o testículos en días 2 y 8, o en las muestras de sangre analizadas en día 8 solamente. ChAd155-RSV tuvo niveles superiores al límite de cuantificación de la técnica (LIC) en el hígado de uno de los animales y en el bazo de cuatro de ellos a día 2, pero no se detectó en ningún órgano a día 8. ChAd155-RSV se detectó a día 2 en el sitio de inyección y en los nódulos linfáticos de la región ilíaca, inguinal y, en algunos casos, los nódulos linfáticos poplíteos. Los niveles más altos se detectan en el día 2, disminuyendo estos niveles progresivamente a lo largo del tiempo, hasta llegar a niveles indetectables en el músculo en el día 29 en algunos animales, y en el día 70 en la mayoría de ellos, y en los nódulos linfáticos en el día 70 también en la mayoría de los animales. Las cantidades detectadas en las muestras de tejido/órganos fue inferior a 30.000 copias/ $\mu$ g de ADN de célula hospedadora en todos los tiempos ensayados, valor que se encuentra por debajo del nivel que exige la realización de estudios adicionales. La distribución y persistencia de ChAd155-RSV es similar a otras vacunas similares de adenovirus.

No se ha planificado en este estudio la detección específica del virus ChAd155-RSV en fluidos biológicos o sangre.

La liberación del OMG en el estudio clínico tiene la intención de desencadenar una respuesta inmune contra tres proteínas del VRS codificadas en el genoma del OMG. Por tanto, la monitorización de los efectos del OMG se realizará estudiando la inmunidad humoral y celular a diferentes tiempos tras la administración del OMG.

También se llevará a cabo una monitorización de los efectos secundarios del tratamiento durante el estudio mediante exámenes físicos, análisis de sangre, muestra nasal y comunicación de los eventos adversos. El seguimiento de la seguridad de los pacientes se lleva a cabo desde la entrada del paciente en el estudio hasta la última visita del estudio (detalles en el protocolo del estudio adjunto).

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

No se han desarrollado métodos específicos para la monitorización de los efectos del OMG en el ecosistema, dado que no se encuentra en el medio ambiente de forma natural, y no se espera su liberación en base a las medidas de manejo del OMG establecidas en este estudio clínico.

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

La probabilidad de que se produzca una transferencia de material genético a otro organismo es muy baja (detalles en la sección G.3. y G.7.)  
No se han establecido medidas adicionales para la detección de la transferencia de material genético desde el OMG a otros organismos durante la liberación propuesta.

4. Tamaño del área de seguimiento (m<sup>2</sup>)

No aplica. El OMG se administra solamente a pacientes mediante inyección intramuscular en una habitación del hospital, tal y como se describe en la Sección F. Además, las muestras biológicas se toman en el mismo lugar.

5. Duración del seguimiento

La seguridad de los pacientes se realizará a lo largo de la participación del paciente en el estudio clínico y hasta la finalización del estudio (16 meses).

6. Frecuencia del seguimiento

De acuerdo al esquema del estudio que se describe en el protocolo, los sujetos se monitorizan de forma rutinaria para la seguridad y seguimiento clínico durante las visitas del estudio planificadas y a lo largo de todo el período de liberación del OMG (desde la primera visita del estudio del primer sujeto (FPFV) hasta la última visita del último sujeto (LPLV) (detalles en el protocolo adjunto).  
Se han planificado un total de 10 visitas durante el estudio: D0 (vacunación); D1; D3; D7; D30; D31; D33; D37 y después D60 y D365. Estas visitas son muy frecuentes justo después de la vacunación ya que están planificadas para el día después de la vacunación, 3 y 7 días post-vacunación.

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

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

La habitación del hospital utilizada para la preparación y la administración de la vacuna de OMG se limpiará con 1% de hipoclorito sódico inmediatamente después de la administración.

Después de vacunar a cada paciente, el sitio de inyección se cubrirá con una gasa con el fin de absorber cualquier virus que pueda quedar proveniente de la aguja de la inyección. La gasa se retirará pasados 30 minutos y se tratará con hipoclorito sódico 1% antes de tirarse en el contenedor de residuos biopeligrosos, que son descontaminados por autoclave o por otros procedimientos de acuerdo a las guías/procedimientos normalizados de trabajo en el centro.

Todos los tratamientos de descontaminación que se realizan tras la liberación de la vacuna se realizarán por personal entrenado que conoce los procedimientos a seguir para desechar residuos biopeligrosos.

En caso de derrame accidental, el perímetro del derrame se limita con papel absorbente y se trata con un agente virucida apropiado con el fin de limpiar y descontaminar la zona.

### **2. Tratamiento del OMG tras la liberación**

Tras la administración, los materiales utilizados para la administración de la vacuna se desecharán en el contenedor de residuos biopeligrosos. Por ejemplo, los viales de la vacuna vacíos, agujas y jeringas. El acondicionamiento secundario de la vacuna no se desecha y se conserva para la contabilidad de la vacuna (no está en contacto con el OMG).

Después de vacunar a cada paciente, el sitio de inyección se cubrirá con una gasa con el fin de absorber cualquier virus que pueda quedar proveniente de la aguja de la inyección. La gasa se retirará pasados 30 minutos y se tratará con hipoclorito sódico 1% antes de tirarse en el contenedor de residuos biopeligrosos.

Terminada la contabilidad de la vacuna y realizada la reconciliación, los materiales del estudio usados y la vacuna no utilizada se destruye en el centro siguiendo los procedimientos internos del hospital relativos a la eliminación de residuos biopeligrosos.

### **3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos**

En base al protocolo del estudio, 48 sujetos serán incluidos en el grupo de aleatorización que recibe ChAd155-RSV. Se realizarán un total de 96 administraciones intramusculares del OMG durante todo el estudio. Dado que se trata de un estudio multicéntrico que se realizará en varios países, los sujetos se incluirán en alguno de los centros listados en la sección F.3.(a).

La vacuna ChAd155-RSV se suministra en vial de cristal, cerrado con tapón gris de goma sellado externamente con una caperuza de aluminio. En base a este acondicionamiento, los residuos generados supondrán un total de 96 viales y sus correspondientes agujas, jeringas, acondicionamiento secundario, guantes, mascarillas, gafas, batas desechables, vendajes y esparadrapos necesarios para la vacunación de los 48 sujetos reclutados en el grupo de aleatorización que se tratará con el OMG.

### 3(b) Tratamiento de residuos

La basura generada durante el estudio se destruirá en el centro, siguiendo los procedimientos locales de la propia institución (por ejemplo, autoclave, incineración o tratamiento con hipoclorito sódico) por personal entrenado en la eliminación de residuos biopeligrosos.

El instrumental desechable y cualquier otro material utilizado para la administración de la vacuna o para la recolección de fluidos corporales se eliminarán de acuerdo a los procedimientos de bioseguridad del centro.

El material no desechable se limpiará con desinfectantes químicos con actividad virucida probada y después se esterilizará por autoclave de acuerdo a los procedimientos de bioseguridad del centro.

Cuando finalice la administración del tratamiento, todas las vacunas del estudio se destruirán en el centro, de acuerdo a los procedimientos del centro y por personal entrenado en la eliminación de residuos biopeligrosos; o bien destruidos por una entidad autorizada subcontratada por el centro.

También tras la finalización del tratamiento, cada centro participante preparará un listado resumen de las vacunas del estudio recibidas, no utilizadas, utilizadas parcialmente y destruidas.

## **J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia**

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

En caso de contaminación (contaminación de la piel, inyección accidental con la aguja u otra herida por punción, contaminación de los ojos), el personal encargado de la preparación, acondicionamiento o manejo del producto notificará al Investigador Principal y al resto de personal que requiera notificación en base a las políticas institucionales del centro (también al CNB, y al MAGRAMA). Todo el personal será instruido en los procedimientos de actuación en caso de liberación accidental del OMG.

En el improbable caso de que se produzca un derrame accidental, aunque los adenovirus pueden sobrevivir durante largos períodos de tiempo en la superficie y son resistentes a desinfectantes lipídicos dado que se tratan de virus no envueltos, se inactiva por calor, y son susceptibles a diferentes agentes químicos, como el hipoclorito sódico al 1% y al glutaraldehído al 2%. La eliminación completa y efectiva se consigue mediante autoclave a 121°C durante 15 minutos.

En caso de vertido accidental, se cubrirá el vertido con papel absorbente de inmediato, con el fin de que se absorba todo el líquido que contiene el OMG. Después, tanto el papel absorbente como la superficie contaminada se descontamina mediante desinfectantes estándares activos contra el OMG (solución de hipoclorito sódico al 1%). La solución desinfectante se dejará en contacto con la superficie contaminada durante al menos 30 minutos. Antes del comenzar a trabajar en el estudio el equipo será entrenado en cómo manejar derrames y se registrarán los entrenamientos de forma documental.

Se minimiza la exposición por inyección accidental con la aguja de la jeringa mediante la formación del personal que participa en el estudio, que debe demostrar una adecuada competencia en los requerimientos específicos del estudio. No se esperan inoculaciones accidentales en el personal participante del estudio, pero si ocurriera, se considera que el OMG es seguro y se seguirán las guías locales de actuación en estas situaciones.

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

Ver sección J.1.

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

No aplica.

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

Ver sección J.1.

Los pacientes incluidos en el estudio clínico son sometidos a un seguimiento para la

detección de eventos adversos y eventos adversos graves (EAG) tal y como se describe en el protocolo. Cada EAG se recoge y evalúa por el personal del hospital y por el promotor, y las Autoridades Reguladoras serán informadas cuando así sea necesario. Los eventos adversos se registrarán y notificarán de acuerdo a los procedimientos detallados en el protocolo del estudio clínico.

En caso de un efecto indeseado, el medicamento se pondrá en cuarentena hasta que los efectos indeseados sean evaluados y se hayan implementado las medidas de mitigación de riesgo necesarias. Todas las áreas e instalaciones que se hayan utilizado para administrar el medicamento se limpiarán y descontaminarán mediante agentes virucidas.

El riesgo de liberación accidental del OMG al medio ambiente así como la probabilidad de que se produzca un efecto indeseado se considera bajo dado las medidas de control que tendrán lugar durante el transporte, almacenamiento, administración, eliminación y monitorización de la administración del OMG.

#### REFERENCES:

- Anderson, R., Y. Huang, and J. M. Langley. 2010. 'Prospects for defined epitope vaccines for respiratory syncytial virus', *Future Microbiol*, 5: 585-602.
- Biswas, S., M. D. Dicks, C. A. Long, E. J. Remarque, L. Siani, S. Colloca, M. G. Cottingham, A. A. Holder, S. C. Gilbert, A. V. Hill, and S. J. Draper. 2011. 'Transgene optimization, immunogenicity and in vitro efficacy of viral vectored vaccines expressing two alleles of Plasmodium falciparum AMA1', *PLoS One*, 6: e20977.
- Capone, S., A. M. D'Alise, V. Ammendola, S. Colloca, R. Cortese, A. Nicosia, and A. Folgori. 2013. 'Development of chimpanzee adenoviruses as vaccine vectors: challenges and successes emerging from clinical trials', *Expert Rev Vaccines*, 12: 379-93.
- Colloca, S., E. Barnes, A. Folgori, V. Ammendola, S. Capone, A. Cirillo, L. Siani, M. Naddeo, F. Grazioli, M. L. Esposito, M. Ambrosio, A. Sparacino, M. Bartiromo, A. Meola, K. Smith, A. Kurioka, G. A. O'Hara, K. J. Ewer, N. Anagnostou, C. Bliss, A. V. Hill, C. Traboni, P. Klenerman, R. Cortese, and A. Nicosia. 2012. 'Vaccine vectors derived from a large collection of simian adenoviruses induce potent cellular immunity across multiple species', *Sci Transl Med*, 4: 115ra2.
- Colloca, S., and A. Folgori. 2013. 'Generation and screening of a large collection of novel simian Adenovirus allows the identification of vaccine vectors inducing potent cellular immunity in humans', *Sci Transl Med*, 4: 115ra2.
- de Barra, E., S. H. Hodgson, K. J. Ewer, C. M. Bliss, K. Hennigan, A. Collins, E. Berrie, A. M. Lawrie, S. C. Gilbert, A. Nicosia, S. J. McConkey, and A. V. Hill. 2014. 'A phase Ia study to assess the safety and immunogenicity of new malaria vaccine candidates ChAd63 CS administered alone and with MVA CS', *PLoS One*, 9: e115161.
- Donnelly, M. L., G. Luke, A. Mehrotra, X. Li, L. E. Hughes, D. Gani, and M. D. Ryan. 2001. 'Analysis of the aphthovirus 2A/2B polyprotein 'cleavage' mechanism indicates not a proteolytic reaction, but a novel translational effect: a putative ribosomal 'skip'', *J Gen Virol*, 82: 1013-25.
- Feuerbach, F. J., and R. G. Crystal. 1996. 'Progress in human gene therapy', *Kidney Int*, 49: 1791-4.



- Fisher, R. G., W. C. Gruber, K. M. Edwards, G. W. Reed, S. J. Tollefson, J. M. Thompson, and P. F. Wright. 1997. 'Twenty years of outpatient respiratory syncytial virus infection: a framework for vaccine efficacy trials', *Pediatrics*, 99: E7.
- Graham, B. S. 2011. 'Biological challenges and technological opportunities for respiratory syncytial virus vaccine development', *Immunol Rev*, 239: 149-66.
- Hodgson, S. H., K. J. Ewer, C. M. Bliss, N. J. Edwards, T. Rampling, N. A. Anagnostou, E. de Barra, T. Havelock, G. Bowyer, I. D. Poulton, S. de Cassan, R. Longley, J. J. Illingworth, A. D. Douglas, P. B. Mange, K. A. Collins, R. Roberts, S. Gerry, E. Berrie, S. Moyle, S. Colloca, R. Cortese, R. E. Sinden, S. C. Gilbert, P. Bejon, A. M. Lawrie, A. Nicosia, S. N. Faust, and A. V. Hill. 2015. 'Evaluation of the efficacy of ChAd63-MVA vectored vaccines expressing circumsporozoite protein and ME-TRAP against controlled human malaria infection in malaria-naive individuals', *J Infect Dis*, 211: 1076-86.
- Krilov, L. R. 2011. 'Respiratory syncytial virus disease: update on treatment and prevention', *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9: 27-32.
- Ledgerwood, J. E., N. J. Sullivan, and B. S. Graham. 2015. 'Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine--Preliminary Report', *N Engl J Med*, 373: 776.
- Magro, M., V. Mas, K. Chappell, M. Vazquez, O. Cano, D. Luque, M. C. Terron, J. A. Melero, and C. Palomo. 2012. 'Neutralizing antibodies against the preactive form of respiratory syncytial virus fusion protein offer unique possibilities for clinical intervention', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109: 3089-94.
- meeting#30, BRMAC. "BRMAC meeting#30: Adenovirus Titer Measurements and RCA Levels 1." In *FDA Gene Therapy Letter, Discussion of Adenovirus Vectors continued from April 5*.
- O'Hara, G. A., C. J. Duncan, K. J. Ewer, K. A. Collins, S. C. Elias, F. D. Halstead, A. L. Goodman, N. J. Edwards, A. Reyes-Sandoval, P. Bird, R. Rowland, S. H. Sheehy, I. D. Poulton, C. Hutchings, S. Todryk, L. Andrews, A. Folgori, E. Berrie, S. Moyle, A. Nicosia, S. Colloca, R. Cortese, L. Siani, A. M. Lawrie, S. C. Gilbert, and A. V. Hill. 2012. 'Clinical assessment of a recombinant simian adenovirus ChAd63: a potent new vaccine vector', *J Infect Dis*, 205: 772-81.
- Othman, M., A. Labelle, I. Mazzetti, H. S. Elbatarny, and D. Lillicrap. 2007. 'Adenovirus-induced thrombocytopenia: the role of von Willebrand factor and P-selectin in mediating accelerated platelet clearance', *Blood*, 109: 2832-9.
- Peruzzi, D., S. Dharmapuri, A. Cirillo, B. E. Bruni, A. Nicosia, R. Cortese, S. Colloca, G. Ciliberto, N. La Monica, and L. Aurisicchio. 2009. 'A novel chimpanzee serotype-based adenoviral vector as delivery tool for cancer vaccines', *Vaccine*, 27: 1293-300.
- Roy, S., A. Medina-Jaszek, M. J. Wilson, A. Sandhu, R. Calcedo, J. Lin, and J. M. Wilson. 2011. 'Creation of a panel of vectors based on ape adenovirus isolates', *J Gene Med*, 13: 17-25.
- Sheehy, S. H., C. J. Duncan, S. C. Elias, K. A. Collins, K. J. Ewer, A. J. Spencer, A. R. Williams, F. D. Halstead, S. E. Moretz, K. Miura, C. Epp, M. D. Dicks, I. D. Poulton, A. M. Lawrie, E. Berrie, S. Moyle, C. A. Long, S. Colloca, R. Cortese, S. C. Gilbert, A. Nicosia, A. V. Hill, and S. J. Draper. 2011. 'Phase Ia clinical evaluation of the Plasmodium falciparum blood-stage antigen MSP1 in ChAd63 and MVA vaccine vectors', *Mol Ther*, 19: 2269-76.

- Sheets, R. L., J. Stein, R. T. Bailer, R. A. Koup, C. Andrews, M. Nason, B. He, E. Koo, H. Trotter, C. Duffy, T. S. Manetz, and P. Gomez. 2008. 'Biodistribution and toxicological safety of adenovirus type 5 and type 35 vectored vaccines against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1), Ebola, or Marburg are similar despite differing adenovirus serotype vector, manufacturer's construct, or gene inserts', *J Immunotoxicol*, 5: 315-35.
- Simoës, E. A. 1999. 'Respiratory syncytial virus infection', *Lancet*, 354: 847-52.
- Stone, D., Y. Liu, D. Shayakhmetov, Z. Y. Li, S. Ni, and A. Lieber. 2007. 'Adenovirus-platelet interaction in blood causes virus sequestration to the reticuloendothelial system of the liver', *J Virol*, 81: 4866-71.
- Townsend, A. R., and J. J. Skehel. 1984. 'The influenza A virus nucleoprotein gene controls the induction of both subtype specific and cross-reactive cytotoxic T cells', *J Exp Med*, 160: 552-63.
- Vitelli, A., M. R. Quirion, C. Y. Lo, J. A. Mispion, A. K. Grabowska, A. Pierantoni, V. Ammendola, G. E. Price, M. R. Soboleski, R. Cortese, S. Colloca, A. Nicosia, and S. L. Epstein. 2013. 'Vaccination to conserved influenza antigens in mice using a novel Simian adenovirus vector, PanAd3, derived from the bonobo *Pan paniscus*', *PLoS One*, 8: e55435.
- Wevers, D., S. Metzger, F. Babweteera, M. Bieberbach, C. Boesch, K. Cameron, E. Couacy-Hymann, M. Cranfield, M. Gray, L. A. Harris, J. Head, K. Jeffery, S. Knauf, F. Lankester, S. A. Leendertz, E. Lonsdorf, L. Mugisha, A. Nitsche, P. Reed, M. Robbins, D. A. Travis, Z. Zommers, F. H. Leendertz, and B. Ehlers. 2011. 'Novel adenoviruses in wild primates: a high level of genetic diversity and evidence of zoonotic transmissions', *J Virol*, 85: 10774-84.
- Wold, W. S., and K. Toth. 2013. 'Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy', *Curr Gene Ther*, 13: 421-33.
- Zent, O., C. Arras-Reiter, M. Broecker, and R. Hennig. 2002. 'Immediate allergic reactions after vaccinations--a post-marketing surveillance review', *Eur J Pediatr*, 161: 21-5.