

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/18/15
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	06/06/2018
d) Título del proyecto:	"Estudio de fase I/IIa de TG6002 (VV TK-RR-FCU1) administrado mediante infusiones intravenosas (i.v.) en combinación con flucitosina oral (5-fluorocitosina; 5-FC) en pacientes con carcinoma avanzado de tubo digestivo". El código del estudio clínico es TG6002.02
e) Período propuesto para la liberación:	Octubre 2018 a Julio 2021

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	TRANSGENE S.A. Parc d'Innovation, CS80166 400 boulevard Gonthier d'Andernach 67405 Illkirch-Graffenstaden cedex Francia
-------------------------------------	--

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	Viroide	<input type="checkbox"/>
	Virus ARN	<input type="checkbox"/>
	Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> Virus de la vaccinia
	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
<u>Otro, especifíquese (reino, phylum y</u>		

clase)
<p>b) Identidad del OMG (género y especie)</p> <p>Género: Orthopoxvirus</p> <p>Especie: Virus de la vaccinia (VV)</p> <p>El OMG es una suspensión viral del virus recombinante TG6002. TG6002 es un VV recombinante no integrativo, replicativo condicional, derivado de la cepa Copenhague. TG6002 contiene tres modificaciones genéticas respecto a la cepa Copenhague:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) eliminación del gen viral de la timidina quinasa (<i>TK</i>), 2) eliminación del gen viral de la ribonucleótido reductasa (<i>RR</i>) 3) inserción del gen quimérico suicida de <i>FCUI</i> de levadura en el locus de <i>TK</i>
<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p>Los virus con ADN de doble hélice, como el VV, suelen presentar bajas tasas de mutación de un pase al siguiente (Nalca A. y Zumbrun E., 2010). Además, el gen de <i>FCUI</i> se inserta en el locus de <i>TK</i>, ubicado en el fragmento J altamente conservado de <i>HindIII</i> del genoma del VV.</p> <p>La reversión de los virus TK- a TK+, que se produce con frecuencia con mutaciones puntuales, es improbable cuando se realizan inserciones importantes en el cuerpo del gen de <i>TK</i>. Buller et al no detectaron virus revertidos a TK+ tras el pase de cultivos celulares de varios virus recombinantes Western Reserve TK- (Buller R. et al., 1985).</p> <p>El estudio de estabilidad genética ha demostrado una estabilidad del 100 % después de 10 pases en la célula productora (Foloppe J., 2009). Además, para cada lote de producción, la identidad del virus se confirma por PCR y análisis del sitio de restricción. Indirectamente, esta prueba proporciona verificación de la estabilidad genética</p>

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

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

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: BE
- Número de la notificación: B/BE/18/BVW1

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación:
- Número de la notificación:

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

La probabilidad de que TG6002 adquiriera un carácter persistente e invasivo en hábitats naturales es reducida por los siguientes motivos:

- Debido a la inactivación de sus genes de *TK* y *RR*, TG6002 se replica preferentemente en las células que se dividen de forma activa, como células cancerosas. Esto limita la propagación del virus recombinante. Además de esta diferencia y la inserción del transgén *FCUI*, TG6002 es comparable con su virus parental no recombinante. No se espera que las modificaciones genéticas introducidas en TG6002 incrementen la capacidad de diseminación y supervivencia del OMG con respecto al virus parental.
- TG6002 permanece exclusivamente en el citoplasma de las células infectadas, eliminando así cualquier riesgo de integración del ADN viral en el genoma del huésped.
- Durante la liberación propuesta puede producirse la propagación de las partículas infecciosas en el medio ambiente y, potencialmente, entre el público. Sin embargo, en este ensayo clínico se toman medidas destinadas a minimizar la diseminación y las transmisiones accidentales.
- El riesgo de transmisión por contacto es raro, como se demostró con la vacuna antivariólica basada en vaccinia (la aparición de transmisión secundaria de VV desde un receptor vacunado mostró una frecuencia de tan solo un 0,0054 %) (Wertheimer E.R. *et al.*, 2012). El riesgo de transmisión en el ensayo clínico propuesto se reduce mediante el uso de precauciones universales por parte de los trabajadores sanitarios y la educación de los pacientes en una higiene meticulosa de las manos y un apósito adecuado en el sitio de la inyección.
- La temperatura y el aire afectan la persistencia del VV y, salvo que ocurra a temperatura de congelación, un vertido accidental de TG6002 no dará como resultado viabilidad del virus en unas pocas horas o días. Además, TG6002 es un virus encapsulado en lípidos y, en consecuencia, es sensible a muchos desinfectantes clásicos. Por lo tanto, un vertido accidental durante la manipulación del TG6002 se descontaminará fácilmente y no dará lugar a la

propagación y persistencia en el entorno.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

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

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales):

Poxviridae

ii) Género:

Orthopoxvirus

iii) Especie:

Virus de la vaccinia

iv) Subespecie:

v) Cepa: Copenhague
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar:

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:
Sí <input 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 organismo parental no aparece de forma natural en el medio ambiente.	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No aplicable.	

5.a) Técnicas de detección

El genoma lineal del VV está flanqueado por secuencias repetidas terminales invertidas (ITR), las cuales se cierran de forma covalente en sus extremos. Se ha desarrollado una técnica de qPCR para la detección e identificación del esqueleto viral del VV basada en la detección de un amplicón de 141 pb localizado en dichas secuencias ITR.

5.b) Técnicas de identificación

Véase 5. (a).

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"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese: En términos de clasificación del peligro, el VV se considera un agente biológico del grupo 2 según la clasificación de la Comunidad Económica Europea para la protección de los trabajadores con agentes biológicos (2000/54/EC). Esta designación se aplica a los agentes que pueden causar una enfermedad en el hombre y suponer un peligro para los trabajadores; con baja probabilidad de propagarse a la comunidad; y para los cuales existen generalmente una profilaxis o un tratamiento eficaces. Entre los agentes biológicos del grupo 2 se encuentran el virus del sarampión, las salmonelas y los virus de la gripe (tipos A, B y C).</p>	

7. ¿Es el organismo receptor, 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"/>
<p>En caso afirmativo</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:</p> <p>humanos <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>animales <input type="checkbox"/></p> <p>plantas <input type="checkbox"/></p> <p>otros <input type="checkbox"/></p>		
<p>El VV tiene la historia más larga y extensa de uso en seres humanos adquirida durante la campaña de vacunación contra la viruela hasta principios de la década de 1980 con cientos de millones de personas vacunadas. El hecho de que el VV se usó masivamente en la campaña de erradicación de la viruela significa que existe información sin precedentes sobre su comportamiento en seres humanos, incluida la identificación de poblaciones que corren el riesgo de acontecimientos adversos raros (Cono J. <i>et al.</i>, 2003; Kretzschmar M. <i>et al.</i>, 2006). Las complicaciones muy raras, pero serias y potencialmente mortales, incluyeron eczema por vacunación, erupción por vaccinia diseminada, vaccinia progresiva y encefalitis (Fields B.N., 1996). Las personas que se han identificado con un mayor riesgo de efectos adversos graves son:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Niños de menos de 12 años de edad - Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia - Personas con afecciones cutáneas exfoliativas (por ejemplo, eczema grave, dermatitis ectópica o un trastorno cutáneo similar) que requieren terapia sistémica - Personas con inmunodeficiencia significativa debido a una enfermedad subyacente (por ejemplo, VIH/SIDA) y/o medicamentos (por ejemplo, corticoides sistémicos u otros medicamentos inmunodepresores como cortisona, dexametasona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, interferón, cisplatino, doxorrubicina, fluorouracilo, etc.) <p>El VV causa una infección transitoria, con la eliminación de los componentes virales durante varias semanas. Las células huésped infectadas con VV tienen una vida corta (días) y mueren por una forma mixta de apoptosis/necrosis. El VV se replica en el citoplasma de las células infectadas y el ADN viral no se integra en el ADN de la célula huésped. Por lo tanto, el VV es incapaz de colonizar los organismos huésped que infecta.</p>		

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

No existe ningún reservorio natural conocido del VV. Seres humanos, vacas, búfalos, camellos, zorros, mapaches, cerdos, etc., ya han sido infectados por el VV. Sin embargo, el VV no produce una infección latente y, una vez que la infección se presenta, se elimina rápidamente del huésped.

El VV puede infectar a una amplia gama de tejidos humanos, pero no causa enfermedades al ser humano a excepción de las complicaciones derivadas de la vacunación (véase la sección 7. a). Existen diversos agentes antivirales aprobados o experimentales destinados al tratamiento de las infecciones por poxvirus si aparece una reacción adversa grave. Debido a su disponibilidad en el mercado y a los datos preclínicos obtenidos, se debería considerar la posibilidad de utilizar cidofovir y/o ribavirina en el ensayo clínico propuesto.

La replicación del VV tiene lugar exclusivamente en el citoplasma, eliminando así cualquier riesgo de integración del ADN viral en el genoma del huésped (Moss B., 2007).

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: Irrelevante dado que el VV no aparece de forma natural en el medio ambiente.		
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: Irrelevante.		
c) Modo de reproducción Irrelevante.	Sexual <input type="checkbox"/>	Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: Irrelevante.		

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
(i) endosporas	<input type="checkbox"/>
(ii) quistes	<input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>

(vi) huevos

(vii) pupas

(viii) larvas

(ix) otras (especifíquense)
Irrelevante.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

La capacidad de supervivencia del VV depende de la capacidad de replicarse dentro de una célula huésped. Los poxvirus también tienen la capacidad de sobrevivir durante largos períodos en material seco y son relativamente estables cuando se almacenan congelados o liofilizados en condiciones cuidadosamente controladas. Sin embargo, la estabilidad disminuye significativamente al aumentar la temperatura. En condiciones ambientales normales, los poxvirus pierden viabilidad en el plazo de días o semanas.

Los virus VV son sensibles a la inactivación ya sea por métodos físicos o químicos de desinfección. El calor es el agente antimicrobiano más eficaz (los recuentos de viables del VV se reducen 10^7 veces tras la exposición a 60 °C a presión ambiental durante una hora o menos). El VV se considera no infeccioso tras su tratamiento en autoclave. Los desinfectantes químicos hospitalarios también son efectivos contra los virus lipófilos como el VV.

10.a) Vías de diseminación

El VV no recombinante tiene la capacidad de diseminarse ampliamente en el cuerpo humano y se sabe que no produce infección latente. Por lo tanto, tras un periodo inicial con algo de propagación viral a través de los fluidos biológicos, el virus desaparece por completo del huésped.

La transmisión secundaria posterior a la vacunación con el VV es rara, pero se ha descrito en contactos con los familiares, contactos sexuales (CDC, 2007; MMWR, 2004; MMWR, 2010; Vora S. *et al.*, 2008) y entre personas que comparten actividad deportiva (Hughes C.M. *et al.*, 2011; Young G.E. *et al.*, 2011). Según un artículo reciente, hay 5,4 casos de transmisión secundaria de vaccinia por cada 100.000 vacunados con el VV no recombinante (Wertheimer E.R. *et al.*, 2012). La contaminación se produce por contacto físico (p. ej., el virus puede transmitirse al tocar el sitio de vacunación de una persona vacunada no curada, los vendajes o ropas contaminados con el virus vivo del sitio de vacunación, o las pústulas que aparecen espontáneamente).

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Entre las medidas eficaces para evitar la diseminación del VV a otra persona se encuentran el lavado frecuente de las manos con agua y jabón o agentes desinfectantes, el vendaje adecuado del sitio de vacunación (p. ej., con vendajes no oclusivos o una gasa y ropa de manga larga) y la eliminación adecuada de los

vendajes contaminados (p. ej., los vendajes contaminados deben colocarse en bolsas de plástico selladas que deben ser devueltas al centro hospitalario para su destrucción. las ropas y los paños contaminados deben descontaminarse con un lavado rutinario en agua caliente (≥ 71 °C) con detergente) (Cono J. *et al.*, 2003; Rotz L.D. *et al.*, 2001; Stark J.H. *et al.*, 2006; Talbot T.R. *et al.*, 2004).

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.

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

TG6002 es un OMG desarrollado como candidato terapéutico para el tratamiento de pacientes con cáncer. Los genes de *TK* y *RR* de vaccinia se inactivan en TG6002 para mejorar el tropismo in vivo del virus para las células cancerosas frente a las células normales. Una vez que TG6002 ha infectado las células cancerosas, se replica y las destruye. Esto representa la actividad oncolítica de TG6002. El TG6002 tiene otra actividad antitumoral reivindicada que se basa en la inserción del transgén de *FCUI* terapéutico. *FCUI* codifica una enzima capaz de convertir in situ el profármaco 5-FC en los agentes citotóxicos 5-FU y 5-FUMP. Esto representa la actividad quimioterapéutica de TG6002.

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

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	<input type="checkbox"/>
b) Identidad del vector: Se usan dos plásmidos de transferencia para generar TG6002: pTG15466 y pTG17137.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: pTG15466 y pTG17137: <i>Escherichia coli</i>	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
e) Fragmentos constituyentes del vector El plásmido pTG15466 se genera a partir del plásmido pRS306-FCU1 (Erbs P. <i>et al.</i> , 2000) y contiene el gen de <i>FCU1</i> , bajo control del promotor temprano/tardío sintético de vaccinia p11K7.5 y rodeado por porciones del gen de <i>TK</i> de vaccinia. El plásmido pTG17137 es portador del gen de <i>GFP/GPT</i> , bajo control del promotor pHR5, y rodeado por porciones del gen de <i>RR</i> de vaccinia (Foloppe J., 2009).	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección

vi) otros, (especifíquense)

Se genera un virus recombinante intermedio (VGTK⁻/FCU1 o VVTG15466) por recombinación homóloga entre el plásmido pTG15466 y el VV parental (Foloppe J. *et al.*, 2008). El VV recombinante final (es decir, TG6002, también llamado VGTK-RR-/FCU1 o VVTG17137) se obtiene mediante la infección de células productoras con VGTK⁻/FCU1 en presencia de pTG17137. Dos recombinaciones homólogas sucesivas entre el plásmido lanzadera pTG17137 y el genoma viral de VGTK⁻/FCU1 dan lugar al virus recombinante final.

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El inserto contiene el gen que codifica FCU1. El inserto también contiene un promotor de VV para la expresión transgénica (es decir, p11K7.5 sintético).

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

Constituyente del inserto	Fuente	Función pretendida
<i>I4L</i>	VV	Eliminación de la actividad de RR de vaccinia
<i>J2R</i>	VV	Eliminación de la actividad de TK de vaccinia
p11K7.5	VV	Promotor sintético temprano/tardío de vaccinia
<i>FCU1</i>	Levadura	Gen de interés, gen de fusión citosina desaminasa-uracilofosforribosiltransferasa de levadura

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG
El transgén terapéutico que codifica FCU1 se insertó con el fin de convertir *in situ* el profármaco 5-FC en los agentes citotóxicos 5-FU y 5-FUMP.

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense):

El inserto está completamente integrado en el genoma del VV por recombinación homóloga en el gen de *TK*.

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

Sí No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> virus de la vaccinia para p11K7.5
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input checked="" type="checkbox"/> FCU1

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

	FCU1	P11K7.5
i) Orden y taxón superior (animales):	<i>Eukaria</i>	<i>Poxviridae</i>
ii) Familia (plantas):	<i>Saccharomycetaceae</i>	
iii) Género:	<i>Saccharomyces</i>	<i>Orthopoxvirus</i>
iv) Especie:	<i>S. cerevisiae</i>	Virus de la vaccinia
v) Subespecie:		
vi) Cepa:		Copenhague
vii) Cultivar/línea de reproducción:		
viii) Patovar:		
ix) Nombre vulgar:	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
VV: véase las secciones B.7.a) y B.7.b).	otros	<input type="checkbox"/>
(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese: VV: véase la sección B.6.	

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

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese</p> <p>La supresión de las actividades de TK y RR en TG6002 condiciona su replicación a células con una gran capacidad de división (como las cancerosas) y reduce considerablemente su capacidad de supervivencia.</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input checked="" type="checkbox"/></p>

Especifíquese:

Los genes de *TK* y *RR* en TG6002 están inactivados. Ya se ha demostrado en experimentos preclínicos que la inactivación de *TK* disminuye la virulencia del VV (Buller R. *et al.*, 1985) al restringir la replicación viral a células en proliferación. Esto también tiene como objetivo la diseminación del virus a los tumores (Brandt C.R. *et al.*, 1991; Mineta T. *et al.*, 1995).

En seres humanos, TG6002 podría diseminarse a partir de fluidos biológicos, el sitio de la inyección y las pústulas causadas por la vacuna.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Se realizó un estudio de estabilidad genética que demostró una estabilidad del 100% del stock de virus de investigación final después de 10 pases en la célula productora (Foloppe J., 2009).

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		
<u>Toxicidad no clínica:</u> Se investigó el perfil de toxicidad de TG6002 solo en conejos (Kaiser S., 2010; Pablo M.J., 2013) y en combinación con 5-FC en monos (Xanxo S., 2014a; Xanxo S., 2014b; Xanxo S., 2014c). Las administraciones sistémicas cada tres semanas de TG6002 a razón de hasta 5×10^7 ufc/kg indujeron pápulas/vesículas cutáneas infecciosas relacionadas con la dosis, inapetencia que derivó en la pérdida de peso y reducción de la actividad locomotora. Estos signos fueron más pronunciados tras la primera administración que en las siguientes, debido probablemente a las respuestas inmunes de protección. El tratamiento de conejos y monos con TG6002 presentó un cuadro clínico similar, aunque menos grave en conejos. De hecho, ambas especies desarrollaron pápulas/vesículas cutáneas, de carácter leve en los conejos, pero grave en los monos, a la dosis de 5×10^7 ufc/kg, correspondiente a una dosis equivalente en humanos (DEH) de 1×10^9 ufc para una persona de 60 kg de peso. En monos aparecieron lesiones cutáneas dispersas dependientes de la dosis de entre 1 y 10 mm tras la primera administración, correspondientes a la fase viral aguda. Las lesiones		

progresaron en las siguientes etapas: papulovesículas rodeadas de una aureola roja, heridas (hemorrágicas o no), costras duras y cicatrices con pigmentación. Estos resultados fueron coherentes con los efectos conocidos del VV, reduciéndose en gran medida cuando se combinaron TG6002 y 5-FC.

Biodistribución:

Se estudió la distribución del ADN viral en la sangre y los órganos (la médula ósea, el cerebro, el tracto gastrointestinal, el corazón, la piel, el bazo, los riñones, el hígado, los pulmones, los ganglios linfáticos, el músculo esquelético, la médula espinal, la vejiga, los ovarios, los testículos y el sitio de la inyección) de conejos tras realizar 3 inyecciones i.v. semanales de TG6002 (días 1, 8 y 15) (Pablo M.J., 2013). La biodistribución de TG6002 mostró una propagación muy baja y limitada desde el torrente sanguíneo a tejidos u órganos. Los órganos diana para la biodistribución incluyeron el sitio de inyección, la piel distal al sitio de inyección y el bazo, en consonancia con el perfil de toxicidad.

Toxicidad clínica:

El conjunto de datos de seguridad de TG6002 en seres humanos está limitado a la fecha con un paciente en el estudio ONCOVIRAC que fue tratado completamente al nivel de dosis de 1×10^5 ufc sin ninguna reacción adversa grave relacionada con el medicamento del estudio. Los riesgos y las reacciones adversas al fármaco para TG6002 pueden preverse teniendo en cuenta la experiencia con el uso del VV en el programa de erradicación de la viruela, así como la experiencia clínica de TRANSGENE con TG1031 y los datos publicados de JX-594, siendo tanto TG1031 como JX-594 VV recombinantes con el gen de *TK* inactivado.

Para las reacciones adversas identificadas durante la vacunación contra la viruela, véase el párrafo B.7.a.

En el caso de JX-594, un VV de la cepa Wyeth (la más usada durante la vacunación antivariólica) con una eliminación en la región de *TK* y que expresa hGM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos humano), existe una experiencia clínica obtenida con más de 250 pacientes con cáncer avanzado (Breitbach C.J. *et al.*, 2011; Burke J.M. *et al.*, 2012; Heo J. *et al.*, 2012; Heo J. *et al.*, 2011; Heo J. *et al.*, 2013; Hwang T.H. *et al.*, 2011; Mastrangelo M.J. *et al.*, 1998; Park B.H. *et al.*, 2008; Park Y.S. *et al.*, 2012). JX-594 se administró mediante infusiones intratumorales o i.v. únicas o múltiples a dosis de hasta 3×10^9 ufc. Ha demostrado tener un perfil de seguridad aceptable, siendo los efectos secundarios más comunes síntomas gripales, trastornos gastrointestinales (principalmente náuseas y vómitos), anorexia, dolor de cabeza, astenia, dolor, disnea, hipotensión, reacciones en el lugar de la inyección, infección viral cutánea, hipertensión, leucocitosis y leucopenia, trombocitopenia, anemia, hiponatremia, híper o hipoglucemia, hiperbilirrubinemia y erupciones papulopustulosas. Ninguna de las complicaciones graves ocurridas durante la vacunación antivariólica se observó tras el tratamiento con JX-594. Además, no se han presentado informes de transmisión del virus de los receptores de JX-594 al personal sanitario o los contactos del paciente.

En el caso de TG1031, VV con inactivación de *TK* de la cepa Copenhague que porta secuencias que codifican para MUC1 e IL2, TRANSGENE llevó a cabo 3 ensayos clínicos en un total de 56 pacientes con cáncer de mama o próstata. TG1031 se administró a través de inyecciones intramusculares únicas o repetidas en dosis que fueron de las 5×10^5 a las 5×10^7 ufc. En general, la administración de TG1031 presentó una buena tolerancia. Los acontecimientos adversos más frecuentes fueron

las afecciones en el lugar de la inyección (inflamación, eritema y prurito), dolor de cabeza, fatiga, pirexia, artralgia, mialgia, debilidad, hipertensión y trastornos gastrointestinales. También se observaron recuentos anormales de linfocitos y perturbación de los parámetros hepáticos, aunque a niveles que no fueron clínicamente significativos. Un paciente desarrolló tiroiditis, y las instrucciones fueron continuar controlando los autoanticuerpos, incluidos los anticuerpos antitiroideos.

La supresión de las actividades de TK y RR, que limita la replicación de TG6002 a células con una gran capacidad de división (como las cancerosas), debería reducir considerablemente la patogenicidad del virus recombinante con respecto a su virus parental. Se espera que el perfil de seguridad de TG6002 sea aceptable. Además, los individuos de los grupos “en riesgo” identificados durante la vacunación contra la viruela (véase el párrafo B.7.a) no son elegibles para participar en el ensayo clínico propuesto. En el muy improbable caso de que se produzca una toxicidad progresiva clínicamente significativa que, en opinión del investigador, pueda estar relacionada con TG6002, deberá considerarse la posibilidad de utilizar cidofovir y/o ribavirina que está respaldada por datos preclínicos.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:
Véase 4.b)

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:
La identidad del virus puede confirmarse mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con un conjunto de cebadores diseñados en el inserto genético y en la secuencia flanqueante viral del VV recombinante.

F. Información sobre la liberación

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

La liberación es la administración del producto mediante inyecciones intravenosas a pacientes en el entorno hospitalario como parte de un ensayo clínico multicéntrico internacional.

En el ensayo de fase I/II propuesto, se somete a pacientes con tumores gastrointestinales (GI) avanzados a tratamiento con una combinación de TG6002 y el profármaco 5-flucitosina (5-FC). Los pacientes reciben tres inyecciones i.v. semanales de TG6002 y 5-FC por vía oral. Está prevista la participación de un máximo de 59 pacientes en el estudio con 24 pacientes en la parte de la fase I de aumento de la dosis del estudio y 35 pacientes en la parte de la fase II. Todos los pacientes reciben infusiones de TG6002. Una vez finalizado el estudio, se realizará un seguimiento de la supervivencia de todos los pacientes.

La liberación será realizada por personal médico y farmacéutico especializado y con formación. Se vigilará estrechamente la posible propagación viral en fluidos biológicos de los pacientes. Se han elaborado unas instrucciones detalladas sobre

cómo evitar la contaminación por el virus, tomando como base los conocimientos médicos adquiridos durante la campaña de erradicación de la viruela y la experiencia de TRANSGENE con otros 2 VV recombinantes. Estas instrucciones se suministrarán a todo el personal implicado en la manipulación del producto y los pacientes.

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: No aplicable. El OMG y el VV no aparecen de forma natural en el medio ambiente. La liberación actual corresponde a un ensayo clínico y podría compararse posiblemente con el uso del VV durante la campaña de erradicación de la viruela.	

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

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

TG6002 se administra en los siguientes centros:

- **Centro Integral Oncológico Clara Campal (CIOCC)**
Hospital Universitario HM Sanchinarro
Calle de Oña, 10, 28050 Madrid
- **Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jimenez Díaz (FJD)**
Av. de los Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid

b) Área del lugar (m²):

(i) lugar real de la liberación (m²):

- **Centro Integral Oncológico Clara Campal (CIOCC) - Hospital Universitario HM Sanchinarro:** la superficie de la farmacia hospitalaria, donde el TG6002 será recepcionado, almacenado y preparado es de 38 m². El tamaño de las habitaciones en las que será administrado TG6002 es de 100 m² y 32 m².
- **Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jimenez Díaz:** la superficie de la farmacia hospitalaria, donde el TG6002 será recepcionado y almacenado es de 11,39 m² y el área de preparación mide unos 5,9 m². El tamaño de la habitación en la que será administrado TG6002 es de 63,45 m².

(ii) área de liberación más amplia (m²):

No se requiere un tamaño específico para el centro clínico. Sin embargo, todas las zonas en las que se manipula y administra TG6002 a los pacientes y en las que los pacientes permanecen hospitalizados tras la administración de TG6002 serán de acceso restringido (es decir, el acceso a estas zonas está controlado y limitado al personal autorizado del hospital que haya recibido formación relacionada con las medidas de control de la infección). En cada entrada a las zonas restringidas se

coloca el símbolo internacional de peligro biológico. También se coloca en el congelador en el que se almacene TG6002. No se prevé aplicar ninguna otra medida específica para proteger el lugar contra la entrada de personas no autorizadas. La farmacia y el laboratorio del centro deben estar equipados con una cabina de seguridad biológica vertical de acuerdo con las directrices de manipulación de bioseguridad de nivel 2. El paciente pasa la noche hospitalizado tras la primera infusión de TG6002 y al menos 4 horas en el hospital tras la segunda y la tercera infusión.

Las superficies del entorno, las habitaciones de los hospitales, las zonas de atención a los pacientes, los equipos para la atención de los pacientes y los dispositivos médicos se deben limpiar de forma rutinaria con un desinfectante hospitalario. Tras el alta hospitalaria del paciente, todas las superficies de la habitación y el baño deben limpiarse con un desinfectante hospitalario. Elementos como los platos, utensilios, textiles y telas se descontaminan con agua caliente ($\geq 70^{\circ}\text{C}$) y detergente. Todos los residuos deben ser esterilizados con autoclave, incinerados o tratados con una solución de hipoclorito sódico por personal capacitado para la eliminación de los residuos con riesgo biológico.

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

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:
No aplicable.

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:
La dosis máxima administrada es de 3×10^8 ufc (u $8,5 \log_{10}$ ufc) por infusión i.v. Si hay indicios de beneficios para el paciente, él/ella podría recibir varios ciclos de 3 infusiones semanales de TG6002, con un período de 2 a 4 semanas entre cada ciclo. El número máximo de pacientes a incluir en el presente ensayo es de 59 sujetos.

b) Duración de la operación:
Véase 4.a)

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

El OMG se libera para uso clínico únicamente, envasado en viales cerrados y con un etiquetado adecuado. La administración está bajo la responsabilidad del investigador principal del centro clínico, de acuerdo con el protocolo clínico y de acuerdo con las Buenas Prácticas Clínicas.

El producto debe prepararse en condiciones asépticas que cumplan las normas para las soluciones inyectables. TG6002 se prepara bajo una cabina de seguridad biológica vertical de tipo II en un laboratorio o farmacia bajo la dirección de un farmacéutico acreditado. La cabina de seguridad se limpia antes y después de la manipulación con un desinfectante activo. Los virus con cápsula lipídica, como

TG6002, son sensibles a numerosos desinfectantes químicos hospitalarios clásicos con lejía, aldehídos, alcoholes, peróxido de hidrógeno, fenoles y compuestos de amonio cuaternario. Germicidas químicos estándar como Aseptanios Terminal Spore[®], Amphospray 41 IP estéril[®], Anios Oxy'Floor[®], Aniospray SF IP estéril[®], Surfa'Safe Premium[®], Aniosurf[®], Aniosurf Premium[®], Rivascop[®], Surfanios Premium[®], Surfa'Safe[®] y Surfa'Safe SH[®] (lista no exhaustiva) resultan adecuados para la limpieza rutinaria de las zonas de trabajo siempre que se utilicen según lo establecido en las instrucciones del fabricante.

Todo el personal implicado en la manipulación de TG6002 o cualquier material o ropa potencialmente contaminados con TG6002 deberá utilizar equipos de protección individual (EPI) (guantes impermeables, bata, máscara quirúrgica/de trabajo y gafas de seguridad con protección lateral). Todas las transferencias de TG6002 se deben realizar en una bolsa de transporte de plástico sellada u otros recipientes a prueba de fugas sellados con un símbolo de peligro biológico claramente marcado. Además, el personal del centro sigue la política hospitalaria estándar recomendada para la manipulación de vacunas de virus vivos.

En caso de vertido accidental, la zona contaminada debe transformarse en una zona de seguridad. El personal involucrado en la limpieza del vertido debe usar EPI. Deberá esperarse a que las pulverizaciones se depositen antes de colocar con cuidado sobre la zona del vertido toallitas de papel o compresas de laboratorio. El derrame debe absorberse con toallas de papel aplicándose un desinfectante activo (p. ej. una solución de lejía al 0,6% de cloro activo o cualquier otro desinfectante activo). Se dejará que el desinfectante actúe durante 30 minutos. Las toallas de papel contaminadas son reemplazadas por nuevas toallas de papel empapadas en desinfectante. El contacto entre la zona y el desinfectante debe reducirse a 10 minutos. A continuación se debe dejar secar la zona limpia. Por último, todos los elementos desechables deberán eliminarse de acuerdo con el procedimiento habitual del hospital para los residuos infecciosos.

Todo el personal involucrado en la manipulación de TG6002 es consciente de que en caso de:

- Salpicaduras en los ojos: Los ojos deben enjuagarse con agua limpia o solución salina fisiológica (NaCl al 0,9 %) durante 3 minutos y, si es posible, deberá aplicarse una gota de trifluridina al 1 %.
- Salpicaduras en la piel intacta: Debe quitarse la ropa contaminada y colocarse un tejido absorbente en la zona afectada de inmediato. Tras retirar el tejido, la piel debe lavarse con un jabón suave y enjuagarse con agua abundante. A continuación, la piel debe cubrirse durante 5 minutos con un paño empapado en una solución de lejía al 0,45 % de cloro activo o una solución de yodo al 4 %. Posteriormente, la piel debe enjuagarse de nuevo con agua abundante. La ropa contaminada, el tejido absorbente y el paño deben tratarse como material infeccioso según el procedimiento habitual del hospital.
- Cortes o punciones: Se debe permitir que las heridas sangren antes de lavarlas con agua corriente limpia y preferiblemente estéril. A continuación, la zona de piel afectada debe cubrirse con un apósito de gasa estéril que, una vez retirado, deberá desecharse conforme a los procedimientos habituales del hospital para el material infeccioso.
- Ingestión: No debe inducirse el vómito. Se debe llamar al

investigador o a un médico de inmediato. Es necesario realizar una evaluación médica y un seguimiento del individuo expuesto hasta que se descarte la presencia de una infección activa, o hasta lo que establezca la política institucional.

- Inhalación: Este producto es una solución acuosa. En caso de inhalación de salpicaduras o gotas de TG6002, la persona deberá consultar con un médico de inmediato y ser sometida a seguimiento durante un periodo de al menos 2 semanas para asegurarse de que el sujeto es asintomático y de que no se ha producido ningún acontecimiento adverso grave (AAG) como resultado del contacto.

El individuo expuesto deberá ser derivado y supervisado médicamente por un médico especializado en la atención y el tratamiento de pacientes con infecciones por el virus de la vaccinia.

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

No aplicable.

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 ensayo clínico propuesto con TG6002 se ejecutará en paralelo al estudio ONCOVIRAC, el primer ensayo en seres humanos con TG6002 realizado en Francia y patrocinado por Assistance Publique - Hôpitaux de Paris. Este estudio actualmente está reclutando. Hasta la fecha, un paciente ha sido tratado con TG6002 sin ningún informe de liberación accidental del OMG.

La transmisión secundaria y la propagación al medio ambiente no han sido nunca notificadas con TG1031 y JX-594.

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

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

i) Orden y taxón superior (animales):

Primates

ii) Familia (plantas):

Hominidae

iii) Género:

Homo

iv) Especie:

H. sapiens

v) Subespecies:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/Línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Ser humano.

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

TG6002 es un virus vaccinia terapéutico, oncolítico, diseñado para replicarse selectivamente en las células cancerosas y destruirlas. La destrucción de tumores mediante TG6002 se consigue mediante un modo de actuación de múltiples mecanismos, que abarcan la infección y la lisis selectiva de las células tumorales a través de la replicación viral directa (es decir, oncólisis) y la quimioterapia selectiva mediante la conversión *in situ* de la 5-FC en 5-FU y 5-FUMP.

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

Las posibilidades de transferencia genética a otras especies en las condiciones de liberación propuestas son extremadamente bajas. Como se menciona en la sección F, el OMG es liberado en una habitación de hospital y es poco probable que entre en contacto con otras especies animales en este entorno.

Se podría producir transmisión accidental del OMG al personal clínico, a otros pacientes o a familiares cercanos del paciente. En este ensayo se tomarán medidas para evitar la inyección accidental del personal clínico (ver sección F.4.c) y la transmisión secundaria al cuidador y familiares del paciente. Las instrucciones dirigidas al paciente para seguir al regresar a su domicilio son las siguientes:

“Las medidas para evitar la transmisión del virus a terceras personas se aplicarán hasta 7 días tras la última inyección de TG6002 o, en caso de aparición de pústulas, hasta que se caiga la costra, es decir, unas 3 semanas tras la aparición de las pústulas:

- Lávese las manos frecuentemente con agua caliente y jabón o con un desinfectante para manos que contenga al menos un 60 % de alcohol (solución hidroalcohólica)
- Evite compartir sus artículos personales: artículos de higiene personal, utensilios para comer
- Evite el contacto íntimo (besos, sexo)

Si observa la aparición de una pústula superficial en la piel o la boca, deberá seguir inmediatamente las instrucciones indicadas a continuación hasta la curación completa de la lesión (caída de la costra):

1. Cubra la lesión con un vendaje no oclusivo.
2. No deje que otras personas entren en contacto directo con la pústula ni con superficies potencialmente contaminadas (p. ej., el vendaje que cubre la pústula, un trozo de tela o la ropa). Si necesita ayuda (p. ej., para cambiar el vendaje), se deberán utilizar guantes y las manos deberán lavarse con agua caliente y jabón o utilizando un desinfectante para manos que contenga al menos un 60 % de alcohol.
3. Evite cualquier contacto físico directo de las pústulas o superficies contaminadas con:
 - niños de menos de 12 meses de edad
 - mujeres embarazadas o en periodo de lactancia
 - personas con enfermedades cutáneas crónicas (eczema, psoriasis, dermatitis atópica, etc.)
 - pacientes inmunocomprometidos (p. ej., receptores de trasplantes de órganos, pacientes con SIDA o sometidos a tratamientos crónicos con fármacos inmunosupresores)
4. Evite el contacto con otras partes de su cuerpo (p. ej., los ojos, la nariz, etc.) tras haber tocado una pústula o cualquier otra superficie potencialmente contaminada (p. ej., tras haber cambiado el vendaje).
5. En caso de pústulas en la boca, póngase una máscara en presencia de otras personas.
6. Tire todo el material contaminado no lavable (vendas, gasas) en un recipiente herméticamente cerrado o en la bolsa impermeable con cierre zip incluida en el kit de higiene suministrado por el hospital y llévelo al hospital en la siguiente visita. La ropa sucia (p. ej., sábanas, ropa, toallas) puede lavarse con agua caliente y detergente. También puede utilizar lejía (una taza por carga de lavado) para la descontaminación.”

En caso de transmisión secundaria a pesar de haber tomado las medidas descritas, deberá considerarse la recombinación entre TG6002 y (en orden de preferencia) un virus vaccinia, otro orthopoxvirus (OPV) u otro virus con secuencias de DNA homólogas al TG6002:

Recombinación entre TG6002 y un VV u otro OPV:

Inmunológicamente, los OPV (VV es un OPV) presentan reactividad cruzada y protección cruzada, de modo que tras la infección con cualquier miembro de este género se obtiene protección ante la infección de cualquier otro miembro del mismo género. Excepto que tenga lugar rápidamente tras la infección con TG6002 junto a otro VV u OPV (es decir, antes del establecimiento de la protección inmune), es poco probable que tenga lugar un proceso de recombinación que de lugar a un nuevo virus o al virus TG6002 parental. Además, varias recombinaciones serían necesarias para restablecer los genes TK y RR.

Recombinación entre Tg6002 y otro virus con secuencias de DNA homólogas al TG6002:

El TG6002 es un virus atenuado con delección en 2 genes de VV, lo cual hace que la replicación del mismo sea condicional a una alta expresión de las actividades TK y

RR en las células infectadas. Los eventos de recombinación entre TG6002 y otro virus deberían ocurrir, por tanto, en células con elevada expresión de TK y RR o tras una restauración de estos 2 genes en el TG6002. Ambas situaciones son improbables.

Los acontecimientos de recombinación con otros organismos silvestres son poco probables ya que esto requeriría la presencia de otros poxvirus que no aparecen de forma natural en el entorno.

TG6002 permanece exclusivamente en el citoplasma de las células infectadas, eliminando así cualquier riesgo de integración del ADN viral en el genoma del huésped.

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:

No aplicable. Las características replicativas y de propagación del virus de la vaccinia se han atenuado en TG6002 con la eliminación de las actividades de TK y RR, que hace que el organismo modificado presente una elevada dependencia de las células con altas tasas de división, como las cancerosas. Por lo tanto, TG6002 debería tener competitividad e invasividad reducidas en comparación con el virus de la vaccinia.

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

Se prevé que TG6002 no interactúe con organismos no objetivo debido a las condiciones de la liberación propuesta. De hecho, el OMG está confinado en el centro hospitalario, incluido el quirófano, la farmacia, el laboratorio clínico y el área de tratamiento con autoclave/incineración. En el caso improbable de una administración accidental a organismos no objetivo, sería poco probable una mayor diseminación, ya que solo hubo casos raros de transmisiones secundarias durante la campaña de vacunación contra la viruela con virus de la vaccinia y la patogenicidad del TG6002 es reducida en comparación con el virus de la vaccinia.

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):

Primates

ii) Familia (plantas):

Hominidae

iii) Género:

Homo

iv) Especie:

H. sapiens

v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar: Ser humano. Es posible que el personal del hospital pueda ser inyectado por accidente y que se produzca transmisión secundaria a los familiares de los pacientes. La infección sería dañina en las poblaciones de riesgo (véase sección B.7.b), definidas como aquellos individuos que cumplen al menos uno de los siguientes criterios: <ul style="list-style-type: none"> • niños de menos de 12 meses de edad • mujeres embarazadas o en periodo de lactancia • personas con afecciones cutáneas exfoliativas (p.ej., eczema grave, dermatitis ectópica o un trastorno cutáneo similar) que requieren terapia sistémica • personas con una inmunodeficiencia significativa debido a una enfermedad subyacente (p. ej., VIH/SIDA) y/o medicamentos (p.ej., corticoides sistémicos u otros medicamentos inmunosupresores como cortisona, dexametasona, hidrocortisona, prednisona, prednisolona, interferón, cisplatino, doxorubicina, fluoruracilo, etc.) Aquellos pacientes que no puedan evitar el contacto físico directo con individuos “en riesgo” (p.ej., familiares, personas cercanas) al cumplir al menos uno de los criterios anteriores quedarán excluidos de la participación en el estudio. El personal sanitario de cumpla al menos uno de los criterios mencionados y sea considerado por tanto como individuo “en riesgo” quedará asimismo excluido de la participación en el ensayo.

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Las posibilidades de transferencia genética a otras especies en las condiciones de liberación propuestas para el OMG son mínimas. El OMG se libera para ser administrado a los pacientes en habitaciones de hospital y es poco probable que entre en contacto con otras especies animales. Además, TG6002 permanece localizado en el citoplasma de la célula hasta la lisis de la célula infectada. No existe un posible intercambio genético con otros poxvirus humanos ya que no son endémicos en seres humanos. En animales susceptibles a la infección por el virus de la vaccinia, la oportunidad de recombinación genética con poxvirus animales es probablemente baja ya que, hasta donde sabemos, esto nunca ha sido notificado durante la campaña de erradicación de la viruela.
--

b) De otros organismos al OMG:
Véase 7 (a).

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:
No hay datos disponibles.

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 se dispone de datos sobre el comportamiento y las características de TG6002 en los entornos mencionados.

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

No aplicable.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

La supervisión de los efectos directos e indirectos del OMG en los pacientes se consigue mediante las siguientes evaluaciones clínicas: exámenes físicos, notificación de acontecimientos adversos, evaluaciones de laboratorio clínico durante todo el estudio clínico para todos los pacientes.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No están previstos, ya que el OMG y el virus de la vaccinia parental no aparecen de forma natural en el medio ambiente.

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

Método no disponible - La probabilidad de una transferencia del material genético donado a otros organismos es poco probable ya que el TG6002 no tiene localización nuclear y no se conoce ningún virus endémico humano capaz de complementar, recombinar o intercambiar material genético con el genoma de vaccinia.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No aplicable: el OMG es administrado a pacientes mediante inyecciones intravenosas en habitaciones de hospital.

5. Duración del seguimiento

Las evaluaciones de seguridad se realizan a lo largo de la participación del paciente en el ensayo clínico y hasta 4 semanas después de la interrupción del tratamiento.

6. Frecuencia del seguimiento

Se evaluará la seguridad de los pacientes desde la primera dosis de tratamiento hasta la visita de fin de estudio según los puntos temporales especificados en el protocolo clínico.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La cabina de seguridad biológica donde se prepara el producto para inyección se descontamina con cualquier desinfectante activo antes y después de la manipulación.

Todo el material dedicado al ensayo clínico se desecha después de su uso y a continuación es esterilizado con autoclave, incinerado o tratado con una solución de hipoclorito sódico por personal capacitado para la eliminación de los residuos con riesgo biológico.

El material no dedicado al ensayo clínico se esteriliza o se limpia con un desinfectante activo.

Después del alta del paciente, la habitación de hospital (superficies y suelo) y el cuarto de baño se limpian de manera estándar con un desinfectante hospitalario.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Para el tratamiento de residuos clínicos, véase I.3.(b).

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Durante la preparación y administración del OMG se generan dos tipos de residuos:

- Material desechable en contacto con el OMG
- Material no desechable en contacto con el OMG

Entre el material desechable generado a partir de la preparación y administración del OMG se encuentran al menos:

- viales usados (vacíos) y no usados
- material de preparación y administración, en concreto: viales de dilución vacíos y no vacíos, jeringas, bolsas de infusión, agujas, vías de infusión, bolsas o recipientes a prueba de fugas

- otros materiales utilizados como gasas, apósitos, guantes, batas, máscaras, vendajes

Entre el material no desechable generado a partir de la preparación y administración del OMG se encuentran al menos:

- bata de laboratorio, gafas de protección para el profesional sanitario
- cata del paciente, ropa de cama, toallas

Los procedimientos para el manejo, preparación y administración del OMG desarrollados por el promotor y distribuidos a todos los centros participantes indican cómo gestionar los residuos:

- El material desechable debe eliminarse de acuerdo con los requerimientos locales y los procedimientos habituales del hospital para residuos infecciosos. En ambos centros, los residuos del medicamento en investigación se recogerán en contenedores especiales (Grupo III) marcados con una etiqueta que indica “Contenedor para residuos biológicos infecciosos, Contiene OMG” y serán destruidos por entidades acreditadas para este fin.
- El material no desechable debe limpiarse/tratarse conforme a los requerimientos locales y los procedimientos habituales del hospital para material infeccioso (p. ej., lavado con agua caliente a ≥ 71 °C con detergente y secado con aire caliente).

Dado que 59 pacientes formarán parte del ensayo TG6002.02 y que se estima que unos 10 pacientes participen en España, la cantidad de residuos desechables generados será de unas 10 unidades para cada tipo de residuo listado anteriormente, no superando las 60 unidades.

3(b) Tratamiento de residuos

Los residuos se deben desactivar mediante:

- Esterilización en autoclave/incineración
- o
- Uso de un desinfectante [p. ej., una solución de lejía al 0,6 % de cloro activo o cualquier otro desinfectante activo].

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

Se recomienda al personal involucrado en la manipulación del TG6002 que actúe como se describe en el párrafo F.4.c) en caso de incidente con el uso de TG6002.

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

Véase 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 aplicable.

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

Se controla la aparición de acontecimientos adversos y acontecimientos adversos graves (AAG) en los pacientes según el protocolo clínico. Los AAG son registrados y evaluados por el personal del hospital y el promotor del estudio, y se informa sobre ellos a las autoridades sanitarias cuando proceda.

Las características replicativas y de propagación del virus de la vaccinia se han atenuado en TG6002 con la eliminación de los genes de *TK* y *RR*, que hace que la replicación del virus dependa de las células en división, como las cancerosas. Por lo tanto, la probabilidad de propagación de TG6002 fuera de los tumores de los pacientes es muy baja.

La información clínica sobre TG6002 está limitada hasta la fecha con solo un paciente tratado con TG6002/5-FC en el ensayo ONCOVIRAC. Los datos clínicos de otros 2 VV recombinantes sugieren que los VV deficientes en *TK* no se propagan a los cuidadores en contacto con los pacientes tratados. En caso de producirse la propagación del virus, el nivel de exposición previsto sería bajo en comparación con las dosis recibidas por los pacientes en el estudio clínico propuesto. En el improbable caso de que los individuos expuestos presentasen toxicidad asociada al virus, se puede iniciar un tratamiento con inmunoglobulina de vaccinia (IGV) para evitar riesgos para la salud pública.

No se observaron efectos adversos sobre el medio ambiente tras el uso masivo del virus no atenuado durante el programa de erradicación de la viruela. Por ello, no se espera que la liberación de TG6002 en las condiciones del ensayo clínico propuesto tenga ningún efecto sobre el medio ambiente.

BIBLIOGRAFÍA

- Directive 2000/54/EC. *Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work*
- Brandt C.R., Kintner R.L., Pumfery A.M., Visalli R.J. and Grau D.R. "The herpes simplex virus ribonucleotide reductase is required for ocular virulence." *The Journal of general virology*. (1991) 72 (Pt 9): 2043-2049.
- Breitbach C.J., Burke J., Jonker D., Stephenson J., Haas A.R., Chow L.Q., Nieva J., Hwang T.H., Moon A., Patt R., Pelusio A., Le Boeuf F., Burns J., Evgin L., De Silva N., Cvancic S., Robertson T., Je J.E., Lee Y.S., Parato K., Diallo J.S., Fenster A., Daneshmand M., Bell J.C. and Kirn D.H. "Intravenous delivery of a multi-mechanistic cancer-targeted oncolytic poxvirus in humans." *Nature*. (2011) 477(7362): 99-102.
- Buller R., Smith G., Cremer K., Notkins A. and Moss B. "Decreased virulence of recombinant vaccinia virus expression vectors is associated with a thymidine kinase-negative phenotype." *Nature*. (1985) 317: 813-815.
- Burke J.M., Breitbach C., Patt R.H., Lencioni R., Homerin M., Limacher J.-M., Lusky M., Hickman T., Longpre L. and Kirn D.H. "Phase IIb randomized trial of JX-594, a targeted multimechanistic oncolytic vaccinia virus, plus best supportive care (BSC) versus BSC alone in patients with advanced hepatocellular carcinoma who have failed sorafenib treatment (TRAVERSE)." *ASCO Annual Meeting. J Clin Oncol 30, 2012 (suppl; abstr TPS4152)*. (2012).
- CDC. "CDC. Household transmission of vaccinia virus from contact with a military smallpox vaccinee. Illinois and Indiana." *MMWR*. (2007) 56: 478-481.
- Cono J., Casey C.G. and Bell D.M. "Smallpox vaccination and adverse reactions. Guidance for clinicians." *MMWR Recomm Rep*. (2003) 52(RR-4): 1-28.
- Erbs P., Regulier E., Kintz J., Leroy P., Poitevin Y., Exinger F., Jund R. and Mehtali M. "In vivo cancer gene therapy by adenovirus-mediated transfer of a bifunctional yeast cytosine deaminase/uracil phosphoribosyltransferase fusion gene." *Cancer Research*. (2000) 60(14): 3813-3822.
- Fields B.N. "Poxviruses. In: *Fields Virology 3rd ed.* Lippincott Williams & Wilkins." (1996): 2679-2689.
- Foloppe J. "Construction, sequence determination and genetic stability of a recombinant vaccinia virus (Copenhagen strain) deleted in the thymidine kinase (J2R) and ribonucleotide reductase (I4L) genes and expressing FCU1: VVTG17137 (VVTG-I4L-/FCU1)." Study Report (DP0403) Strasbourg, Transgene, (2009)
- Foloppe J., Kintz J., Futin N., Findeli A., Cordier P., Schlesinger Y., Hoffmann C., Tosch C., Balloul J.M. and Erbs P. "Targeted delivery of a suicide gene to human colorectal tumors by a conditionally replicating vaccinia virus." *Gene Ther*. (2008) 15(20): 1361-1371.
- Heo J., Breitbach C., Cho M., Hwang T.-H., Won Kim C., Jeon U.B., Woo H.Y., Yoon K.T., Lee J.W., Burke J., Hickman T., DuBois K.S., Longpre L., Patt R.H. and Kirn D.H. "A phase II trial of JX-594, a targeted multimechanistic oncolytic vaccinia virus, followed by sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC)." *ASCO Annual Meeting. J Clin Oncol 30, 2012 (suppl; abstr e14566)*. (2012).
- Heo J., Breitbach C.J., Moon A., Kim C.W., Patt R., Kim M.K., Lee Y.K., Oh S.Y., Woo H.Y., Parato K., Rintoul J., Falls T., Hickman T., Rhee B.G., Bell J.C., Kirn D.H. and Hwang T.H. "Sequential therapy with JX-594, a targeted oncolytic poxvirus, followed by sorafenib in hepatocellular carcinoma: preclinical and clinical demonstration of combination efficacy." *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. (2011) 19(6): 1170-1179.

- Heo J., Reid T., Ruo L., Breitbart C.J., Rose S., Bloomston M., Cho M., Lim H.Y., Chung H.C., Kim C.W., Burke J., Lencioni R., Hickman T., Moon A., Lee Y.S., Kim M.K., Daneshmand M., Dubois K., Longpre L., Ngo M., Rooney C., Bell J.C., Rhee B.G., Patt R., Hwang T.H. and Kim D.H. "Randomized dose-finding clinical trial of oncolytic immunotherapeutic vaccinia JX-594 in liver cancer." *Nature Medicine*. (2013) 19(3): 329-336.
- Hughes C.M., Blythe D., Li Y., Reddy R., Jordan C., Edwards C., Adams C., Connors H., Rasa C., Wilby S., Russell J., Russo K.S., Somsel P., Wiedbrauk D.L., Dougherty C., Allen C., Frace M., Emerson G., Olson V.A., Smith S.K., Braden Z., Abel J., Davidson W., Reynolds M. and Damon I.K. "Vaccinia virus infections in martial arts gym, Maryland, USA, 2008." *Emerging infectious diseases*. (2011) 17(4): 730-733.
- Hwang T.H., Moon A., Burke J., Ribas A., Stephenson J., Breitbart C.J., Daneshmand M., De Silva N., Parato K., Diallo J.S., Lee Y.S., Liu T.C., Bell J.C. and Kim D.H. "A mechanistic proof-of-concept clinical trial with JX-594, a targeted multi-mechanistic oncolytic poxvirus, in patients with metastatic melanoma." *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. (2011) 19(10): 1913-1922.
- Kaiser S. "5-fluorocytosine (5-FC) and TG6002 : 22-Day Dose Range Finding Intraperitoneal and Intravenous Toxicity Study in the New Zealand White Rabbit (C90724)." Study Report Itingen, Switzerland, Harlan Laboratories Ltd., (2010)
- Kretzschmar M., Wallinga J., Teunis P., Xing S. and Mikolajczyk R. "Frequency of adverse events after vaccination with different vaccinia strains." *PLoS Med*. (2006) 3(8): e272.
- Mastrangelo M.J., Maguire H.C., Jr., Eisenlohr L.C., Laughlin C.E., Monken C.E., McCue P.A., Kovatich A.J. and Lattime E.C. "Intratumoral recombinant GM-CSF-encoding virus as gene therapy in patients with cutaneous melanoma." *Cancer Gene Therapy*. (1998) 6(5): 409-422.
- Mineta T., Rabkin S.D., Yazaki T., Hunter W.D. and Martuza R.L. "Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas." *Nature Medecine*. (1995) 1(9): 938-943.
- MMWR. *CDC. Secondary and tertiary transfer of vaccinia virus among U.S. military personnel - United States and worldwide, 2002-2004. MMWR 2004. 53.(2004): 103-105.*
- MMWR. *Vaccinia virus infection after sexual contact with a military smallpox vaccinee. Washington, Morb Mortal Wkly Rep.(2010) 59: 773-775.*
- Moss B. *Poxviridae*, D. M. Knipe.(2007)
- Pablo M.J. "TG6002: 17-day Toxicity Study in the New Zealand White Rabbit by Intravenous Administration (Slow Bolus) Followed by a 91-day Recovery Period." Study Report Harlan Laboratories S.A. Barcelona/Spain, (2013)
- Park B.H., Hwang T., Liu T.C., Sze D.Y., Kim J.S., Kwon H.C., Oh S.Y., Han S.Y., Yoon J.H., Hong S.H., Moon A., Speth K., Park C., Ahn Y.J., Daneshmand M., Rhee B.G., Pinedo H.M., Bell J.C. and Kim D.H. "Use of a targeted oncolytic poxvirus, JX-594, in patients with refractory primary or metastatic liver cancer: a phase I trial." *The lancet oncology*. (2008) 9(6): 533-542.
- Park Y.S., Lee J., Lim H.Y., Lee J., Pelusio A., Burke J.M., Breitbart C. and Kim D.H. "A phase Ib dose escalation study of JX-594 (TK-vaccinia virus expressing GM-CSF) administered by biweekly intravenous infusion in patients with metastatic, refractory colorectal carcinoma." *ASCO Annual Meeting. J Clin Oncol 30, 2012 (suppl; abstr e13044)*. (2012).
- Rotz L.D., Dotson D.A., Damon I.K. and Becher J.A. "Vaccinia (smallpox) vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2001." *MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report*.

Recommendations and reports / Centers for Disease Control. (2001) 50(RR-10): 1-25; quiz CE21-27.

- Stark J.H., Frey S.E., Blum P.S. and Monath T.P. "Lack of transmission of vaccinia virus." *Emerging infectious diseases.* (2006) 12(4): 698-700.
- Talbot T.R., Ziel E., Doersam J.K., LaFleur B., Tollefson S. and Edwards K.M. "Risk of vaccinia transfer to the hands of vaccinated persons after smallpox immunization." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* (2004) 38(4): 536-541.
- Vora S., Damon I., Fulginiti V., Weber S.G., Kahana M., Stein S.L., Gerber S.I., Garcia-Houchins S., Lederman E., Hruba D., Collins L., Scott D., Thompson K., Barson J.V., Regnery R., Hughes C., Daum R.S., Li Y., Zhao H., Smith S., Braden Z., Karem K., Olson V., Davidson W., Trindade G., Bolken T., Jordan R., Tien D. and Marcinak J. "Severe eczema vaccinatum in a household contact of a smallpox vaccinee." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* (2008) 46(10): 1555-1561.
- Wertheimer E.R., Olive D.S., Brundage J.F. and Clark L.L. "Contact transmission of vaccinia virus from smallpox vaccinees in the United States, 2003-2011." *Vaccine.* (2012).
- Xanxo S. "TG6002: GLP Dose-Range-Finding Study in the Cynomolgus Monkey." Study Report Barcelona/Spain, (2014a)
- Xanxo S. "TG6002: Preliminary TG6002 and 5-FC Toxicity Study in the Cynomolgus Monkey." Study Report Harlan Laboratories S.A. Barcelona/Spain, (2014b)
- Xanxo S. "TG6002: Safety Pharmacology Study of TG6002 and 5-FC in the Cynomolgus Monkey." S48207 Study Report Harlan Laboratories S.A. Barcelona / Spain, (2014c)
- Young G.E., Hidalgo C.M., Sullivan-Frohm A., Schult C., Davis S., Kelly-Cirino C., Egan C., Wilkins K., Emerson G.L., Noyes K. and Blog D. "Secondary and tertiary transmission of vaccinia virus from US military service member." *Emerging infectious diseases.* (2011) 17(4): 718-721.