

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/20/26
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	23/10/2020
d) Título del proyecto:	<i>“Estudio fase I de VCN-01 para tumores cerebrales malignos recurrentes en pacientes pediátricos y adultos jóvenes”</i>
e) Período propuesto para la liberación:	<i>Inicio abril 2021 y fin abril 2027</i>

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	<i>Clínica Universidad de Navarra/Universidad de Navarra Avda. Pío XII 36 31008 Pamplona Tfno.: 948 255 400</i>
-------------------------------------	---

3. Definición del OMG

a) /Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>
	- mamíferos <input type="checkbox"/>
	- insectos <input type="checkbox"/>
	- peces <input type="checkbox"/>

- otro animal especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie):

Familia: *Adenoviridae*

Genero: *Mastadenovirus*

Especie: *Type 5 human Adenovirus (HAd5)*

El OMG (VCN-01) es un adenovirus oncolítico, de replicación competente y selectiva para células tumorales. VCN-01 expresa selectivamente una enzima que degrada la matriz extracelular tumoral (hialuronidasa) y su genoma contiene cuatro modificaciones genéticas adicionales con respecto a la cepa salvaje HAd5.

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

En general, los virus de ADN bicatenario, como los adenovirus, suelen ser muy estables. Los datos epidemiológicos muestran que la circulación de HAd5 durante más de 40 años en la población no ha producido cambios en su estructura genómica. Ni su paso en el laboratorio durante 39 años ni el co-cultivo forzado con otros serotipos. En general, los adenovirus modificados genéticamente son genéticamente estables siempre que su tamaño del genoma no supere el 105% del tamaño del genoma del adenovirus salvaje. Los genomas más grandes hacen que el virus crezca más lentamente y sufre reordenamientos espontáneos que provocan la pérdida de secuencias de ADN no esenciales, generalmente los insertos. En pacientes inmunodeprimidos, se ha descrito la recombinación entre adenovirus de los subgrupos B1 y E (este mecanismo parece desempeñar un papel importante en la evolución de nuevas cepas con diferentes propiedades inmunogénicas para estos serotipos), pero recombinantes del subgrupo C como adenovirus HAd5 nunca ha sido aislado hasta la fecha.

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)?

<p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> Pero por diferente notificador, la Clínica Universidad de Navarra en este proyecto (VCN Biosciences es el propietario del OMG y el INSTITUT CATALÀ D'ONCOLOGIA es el promotor del anterior proyecto).</p>	<p>No <input type="checkbox"/></p>
<p>En caso afirmativo, indique el código del país: España</p>	

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

<p>Sí <input type="checkbox"/></p>	<p>No <input checked="" type="checkbox"/> Fue diferente notificador, la Clínica Universidad de Navarra en este proyecto (VCN Biosciences es el</p>
------------------------------------	--

	propietario del OMG y el INSTITUT CATALÀ D'ONCOLOGIA, promotor del anterior proyecto)
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación: España	
- Número de la notificación: B/ES/18/14	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	
- Número de la notificación:	

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

<p>En base a las siguientes razones, la probabilidad de que VCN-01 se vuelva persistente e invasiva en el hábitat natural es baja:</p> <ul style="list-style-type: none"> • VCN-01 está diseñado para ser selectivo para la replicación y, por lo tanto, se espera que se propague solo en las células cancerosas humanas. • La probabilidad de transmisión horizontal de adenovirus humanos salvajes y recombinantes a otras especies en el hábitat es muy baja dada la especificidad de especie de este tipo de virus. • La estabilidad genética de VCN-01 ha sido confirmada y no se espera que vuelva al virus salvaje, ni que cambie sus interacciones con el medio. • La probabilidad de movilización de VCN-01 debido a la co-infección con la cepa salvaje es altamente improbable porque, aunque las infecciones adenovirales son endémicas, la incapacidad de amplificar VCN-01 en tejidos no tumorales minimiza sustancialmente el riesgo de co-infección. Sin embargo, si esto ocurriera, y por lo tanto, un evento de transcomplementación entre virus, el resultado sería una infección idéntica a la infección del virus HAd5 parental, ya que VCN-01 no presenta una mayor patogenicidad en comparación con el virus HAd5. Además, la mayoría de la población es seropositiva para neutralizar los anticuerpos anti-adenovirus. La infección adenoviral es básicamente asintomática, autolimitada y restringida a ciertos tejidos permisivos. • VCN-01 y, en general, todos los adenovirus son virus no integrativos, por lo que la posibilidad de integración del ADN viral en el genoma del huésped es insignificante. Además, hasta la fecha, no se ha observado la transmisión de la línea germinal de material genético de adenovirus a la descendencia, incluso con una vía de administración que facilita la llegada del virus a las gónadas y es capaz de infectar células no germinales. No se han descrito eventos adversos asociados con la presencia a largo plazo de genomas. • Dada la baja probabilidad de infectar intencionalmente a sujetos no tratados, y la

falta de replicación de VCN-01 en células de sujetos no afectados por cáncer, la posibilidad de diseminación de VCN-01 al medio por parte de terceros se considera insignificante. Además, el mismo OMG se está administrando en otros ensayos clínicos y hasta la fecha no ha habido casos de infección con VCN-01 por parte del personal de salud o los familiares de los pacientes en contacto con los pacientes tratados.

- Se tomarán las medidas necesarias para evitar la propagación del OMG fuera del lugar de liberación.

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

Para completar la información, se han tenido en cuenta las siguientes premisas:

- OMG: VCN-01
- Receptor: HAd5
- Donante: fragmentos genómicos humanos y sintéticos añadidos a HAd5 para generar el adenovirus de replicación selectiva VCN-01.

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Adenoviriae</i>
ii) Género: <i>Mastadenovirus</i>
iii) Especie: <i>Tipo 5 human Adenovirus (HAd5)</i>
iv) Subespecie: <i>Tipo C adenovirus</i>
v) Cepa:
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: <i>HAd5</i>

3. Distribución geográfica del organismo

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

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): HAd5 no se encuentra en ecosistemas naturales ya que necesita células humanas para activarse. La especificidad de HAd5 lo hace excepcionalmente capaz de replicarse en células humanas. Las ratas de algodón (*Sigmodon hispidus*), los cerdos (*Sus scrofa*), los chimpancés (*Pan troglodytes*) y también algunos tipos de hámsters (*Mesocricetus auratus*) también se han descrito como semi-permisivos para la replicación del adenovirus humano, pero hasta la fecha la presencia de Los adenovirus no se han detectado naturalmente en estas especies.

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No aplica

5. a) Técnicas de detección

La detección de partículas físicas se lleva a cabo mediante la técnica RT-PCR (Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real) directamente del ADN obtenido del tejido / órgano a analizar, y utilizando oligonucleótidos que amplifican una región no codificante del genoma del virus. La detección de partículas infecciosas se puede llevar a cabo utilizando pruebas funcionales como el "ensayo de placa" (capacidad de generar placas en monocapas de células humanas in vitro), anti-hexón (ensayo de valoración de expresión de proteínas de adenovirus tardío) o TCID50 (determinación del título citotóxico para 50% de una cultura).

5. b) Técnicas de identificación

La identificación específica de un adenovirus específico se logra analizando la presencia de ADN genómico viral mediante técnicas de amplificación por PCR con oligonucleótidos de secuencia definida complementaria y también mediante análisis de restricción de ADN purificado.

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 cuanto a la clasificación de riesgo, HAd5 se clasifica como un agente biológico con un nivel de bioseguridad tipo 2. Un agente biológico del grupo 2 se describe como uno que puede causar enfermedades en el hombre y puede causar peligro a los trabajadores, siendo poco probable que se propague a la comunidad y para el cual generalmente existe una profilaxis o un tratamiento efectivo.	

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"/>
En caso afirmativo		

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

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

Wild HAd5 es un virus humano con un nivel de riesgo biológico del grupo 2.

Las infecciones por adenovirus son de naturaleza leve, principalmente asintomáticas, y solo el 45% de las infecciones se manifiestan como enfermedad. Las infecciones por serotipo 5 de adenovirus pueden causar enfermedades del sistema respiratorio (tracto superior). Los signos y síntomas más comunes de infección incluyen fiebre, congestión nasal, rinitis, amigdalitis, faringitis, tos y diarrea. El período de incubación de la enfermedad es de 2 a 14 días.

La mayoría de la población es seropositiva para los adenovirus, y entre ellos, los adenovirus del grupo C (HAd5) son los más difundidos, lo que hace que cualquier infección adenoviral se neutralice fácilmente.

A diferencia de los retrovirus y lentivirus, los adenovirus son virus no integrantes. Hasta la fecha, no se ha observado ningún caso de transmisión en la línea germinal de material genético de adenovirus a la descendencia, incluso cuando las condiciones son forzadas por la administración del virus por una ruta que le permite llegar a las gónadas y donde es capaz de infectar células germinales no infecciosas.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No aplica.

HAd5 no se encuentra en ecosistemas naturales. Solo se encuentra en las células humanas.

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

c) Modo de reproducción Sexual Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción: No aplica

9. Capacidad de supervivencia

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

i) endosporas

ii) quistes

- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos
- vii) pupas
- viii) larvas
- ix) otras (especifíquense): Ninguna, no aplica

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los adenovirus son bastante estables a temperatura ambiente. Pero pueden ser inactivados por el calor (> 56°C), por ejemplo, su infectividad puede destruirse después de 30 minutos a 56°C o 2 minutos a 60°C o en autoclave a 121°C.

Los adenovirus también son sensibles a los reactivos químicos desinfectantes hospitalarios, como hipoclorito de sodio al 1%, glutaraldehído al 2%, ácido peracético (1000 ppm), dodecil sulfato de sodio al 0,25% y también soluciones a base de algunos alcoholes a ciertas concentraciones (1 a 30% de propano o ≥ Etanol al 55%, v / v), y se inactivan en condiciones de pH extremo (básico; NaOH o ácido 0.09 M; Virkon® S (pH 2.2-2.6)). El título infeccioso se inactiva rápidamente por exposición a cualquiera de los biocidas citados.

10. a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del adenovirus humano de tipo salvaje es a través de las vías respiratorias u orales-fecales. También se puede propagar a través de superficies contaminadas, dedos, soluciones oftálmicas y partículas en el aire. En los niños que han sufrido una infección del tracto respiratorio inferior o una enfermedad generalizada, los adenovirus no entéricos pueden excretarse en la garganta o las heces durante 3 a 6 semanas.

Según la Agencia de Salud Pública de Canadá, la inhalación de 5 partículas infecciosas de HAd4 puede causar patología en personas infectadas sin anticuerpos contra este serotipo; y la dosis mínima de infección por HAd7 es de 150 unidades formadoras de placa. Se desconoce el umbral de infectividad con HAd5. Sin embargo, las infecciones adenovirales suelen ser autolimitadas. También se ha demostrado que dicha transmisión horizontal solo ocurre entre humanos y no afecta a ninguna otra especie, aunque la semi permisividad de la replicación de HAd se ha descrito en ratas de algodón, cerdos, chimpancés y también algunos tipos de hámsters.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Ver sección anterior

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 aplica

C. Información sobre la modificación genética

Para completar la información, se han tenido en cuenta las siguientes premisas:

- OMG: VCN-01
- Receptor: HAd5
- Donante: fragmentos genómicos humanos y sintéticos añadidos a HAd5 para generar el adenovirus de replicación selectiva VCN-01.

1. Tipo de modificación genética:

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

VCN-01 es un adenovirus oncolítico derivado de HAd5 diseñado para el tratamiento de tumores desmóticos. Su genoma contiene varias modificaciones que le dan capacidad de replicación selectiva en las células tumorales, lo que resulta en una poderosa capacidad para eliminar tumores humanos. Las cuatro modificaciones genéticas con respecto a la cepa salvaje HAd5 son: 1) la inserción de un promotor específico de tumor que inhibe la expresión de proteínas virales en células normales, 2) la mutación $\Delta 24$ del gen E1A que impide que el virus se replique en células normales, 3) la sustitución del dominio KKTK de la proteína de fibra de adenovirus por RGDK, lo que reduce la llegada del virus al hígado y le da más biodisponibilidad para llegar al tumor, 4) inclusión de una unidad de transcripción del gen de la hialuronidasa, una enzima degradante de la matriz que aumenta la diseminación intratumoral del efecto oncolítico.

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

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

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

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

En caso negativo, pase a la pregunta 5

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

a) Tipo de vector

plásmido

bacteriófago

virus

cósmido

Elemento de transposición

Otros (especifíquense):

b) Identidad del vector:

Para generar el virus de replicación selectiva VCN-01, se inició el plásmido pICOVIR-17KKT

c) Gama de organismos huéspedes del vector:

El vector se clonó en plásmidos bacterianos que también incluían elementos genéticos que permiten la replicación en levaduras.

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

e) Fragmentos constituyentes del vector

El plásmido pICOVIR-17KKT contiene el genoma completo de VCN-01 flanqueado por secuencias que permiten su amplificación y selección en células bacterianas y de levadura. En consecuencia, incluye fragmentos de HA5 y las cuatro modificaciones genéticas de identidad de VCN-01 (promotor sintético E1A, mutación $\Delta 24$, péptido RGDK y unidad de transcripción del gen de la hialuronidasa).

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense) La transfección de una versión digerida del vector pICOVIR-17KKT en células de adenocarcinoma de pulmón humano A549 da como resultado una copia completa del genoma adenoviral de VCN-01.	

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El HAd5 nativo se ha modificado insertando 4 modificaciones independientes:

<i>Insertar composición de fragmento</i>	<i>Fuente</i>	<i>Función esperada</i>
<i>Promotor específico de tumor compuesto por 4 cajas de conexiones para el factor de transcripción E2F-1 y una caja de conexiones para Sp-1</i>	<i>Sintético</i>	<i>Controla la expresión de la proteína viral E1A de una manera que inhibe la expresión de proteínas virales en las células normales y lo hace posible en las células tumorales (que tienen altos niveles de E2F-1 activo)</i>
<i>Mutación 24 (supresión de 24 pares de bases en el gen E1A)</i>	<i>No aplica</i>	<i>Impide que la proteína adenoviral E1A se una a pRb y libere el factor de transcripción E2F del complejo pRb-E2F, evitando que el virus se replique en las células normales</i>
<i>Mutación de dominio ⁹¹KTK⁹⁴ de proteína de fibra de adenovirus por ⁹¹RGDK⁹⁴</i>	<i>Sintético</i>	<i>Estos aminoácidos están involucrados en la interacción del adenovirus con los heparán sulfatos de la membrana celular. La mutación ⁹¹RGDK⁹⁴ reduce la infección hepática, lo que provoca un aumento de la infección en las células tumorales.</i>
<i>Inclusión de una unidad de expresión para el gen de hialuronidasa de esperma humano (ADNc de PH20)</i>	<i>Sintético (promotor y señales reguladoras) y humano (ADNc)</i>	<i>Expresa una enzima degradante de la matriz que aumenta la propagación intratumoral del efecto oncolítico al favorecer la permeabilidad y mejorar su actividad terapéutica.</i>

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: Ver a)
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG Ver a)
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/> - Otros especifíquense): integrado en el genoma HAd5
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> En caso afirmativo , especifíquese:

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

Para completar la información, se han tenido en cuenta las siguientes premisas:

- OMG: VCN-01
- Receptor: HAd5
- Donante: fragmentos genómicos humanos y sintéticos añadidos a HAd5 para generar el adenovirus de replicación selectiva VCN-01.

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas): Hominidae
iii) Género: Homo
iv) Especie: <i>Homo Sapiens</i>
v) Subespecie: <i>Homo sapiens sapiens</i>
vi) Cepa: No procede
vii) Cultivar/línea de reproducción: No procede
viii) Patovar: No procede
ix) Nombre vulgar: Especie Humana

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

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

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

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

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

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

Para completar la información, se han tenido en cuenta las siguientes premisas:

- OMG: VCN-01
- Receptor: HAd5
- Donante: fragmentos genómicos humanos y sintéticos añadidos a HAd5 para generar el adenovirus de replicación selectiva VCN-01.

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

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Mientras que HA5 es capaz de replicarse en todas las células epiteliales humanas, VCN-01 ha sido diseñado para que solo sea capaz de replicarse en células tumorales humanas.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Es defectuoso en las células humanas normales y, por lo tanto, solo afecta a las células tumorales humanas. No genera la patogenicidad típica de las vías respiratorias de HAd5</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

VCN-01 se produce en la línea celular continua A549, que se eligió por no tener ninguna región homóloga en su genoma con el genoma viral del OMG y, por lo tanto, minimizar la aparición de recombinación entre ellos. Además, se confirmó la ausencia de contaminantes virales en el Master Cell Bank, incluidas las pruebas de HAd5 por qPCR para la proteína E1A. De esta manera, se excluye la posibilidad de una recombinación homóloga con la forma salvaje de la proteína E1A durante la propagación de VCN-01 en las células. Además, a lo largo del proceso de producción, la identidad del OGM se verifica mediante análisis de restricción del ADN viral purificado con un conjunto de enzimas de restricción definidas en diferentes pasos del proceso (material viral inicial, Stock de semillas virales maestras, Propagación y cosecha, Cosecha purificada y producto terminado), así como la secuencia de ADN viral correspondiente a las cuatro modificaciones genéticas de VCN-01 en el material viral inicial y el stock de semillas virales maestras. Además, la estabilidad genética es adecuadamente un parámetro que se evalúa como parte de las especificaciones en el nivel de Cosecha Purificada, según lo recomendado por la Farmacopea Europea. El método de elección es un ensayo de bioamplificación en células no permisivas. De esta manera, la estabilidad genética del genoma VCN-01 se confirmó en condiciones de alta presión selectiva, y se realiza de forma rutinaria en cada nuevo lote producido.

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<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		
<p>El conjunto de alteraciones genéticas que contiene VCN-01 reduce de forma sustancial su patogenicidad en comparación con HAd5. De hecho, VCN-01 replica y elimina las células constituyentes de los tumores humanos y deja intactos los tejidos sanos del cuerpo humano. Esto también reduce la capacidad de colonización (restringiéndose a los tumores) y elimina sus propiedades patogénicas.</p>		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: El ADN de OMG puede detectarse en el medio ambiente utilizando métodos cuantitativos de RT-PCR (tumores) y elimina sus propiedades patogénicas.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: Secuencia ADN. La identidad de VCN-01 se analiza a nivel de ADN genómico viral mediante PCR y análisis de restricción de ADN viral purificado con un conjunto de enzimas de restricción definidas.

F. Información sobre la liberación

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

<p>El objetivo de la liberación es llevar a cabo un ensayo clínico de fase I con una única administración intratumoral de VCN-01 a un máximo de 18 pacientes.</p> <p>No se esperan beneficios para el medio ambiente.</p>

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: La liberación propuesta de VCN-01 se llevará a cabo de manera controlada por personal de salud específico y con la capacitación necesaria, en espacios específicamente definidos del hospital del sitio participante.	

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): <i>Clínica Universidad de Navarra, Avda. Pío XII 36, 31008 Pamplona</i>
b) Área del lugar (m ²): i) lugar real de la liberación (m ²): <i>Ver siguiente sección</i> ii) área de liberación más amplia (m ²): <i>En el contexto de esta aplicación, "liberación" se considera el momento de manejo y administración de VCN-01. Por lo tanto, el área de liberación se refiere, por un lado, al gabinete de bioseguridad de la farmacia del hospital y, por otro lado, a la sala de cirugía donde se administra la preparación de VCN-01. La farmacia del sitio debe estar equipada con un gabinete de seguridad biológica de clase 2 de acuerdo con las regulaciones de manejo de agentes biológicos del Grupo 2. Todas las áreas donde se maneja y administra VCN-01 tendrán acceso controlado y se limitarán al personal autorizado. del hospital que recibió capacitación sobre medidas de control de infecciones.</i>
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: <i>No aplica</i>
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: <i>No aplica</i>

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: <i>En el estudio de la fase I actual, se propone utilizar la dosis VCN-01 de 1×10^{11} vp (dosis D3). Una cohorte de 3 pacientes recibirá una dosis de 1 ml que contiene 1×10^{10} vp (en adelante denominada dosis D1). Si no hay DLT en el virus durante las primeras 4 semanas, los siguientes 3 pacientes recibirán una dosis de D2 (5×10^{10} vp). Si no hay toxicidad de grado III-V relacionada con el virus durante las primeras 4 semanas, los siguientes 3 pacientes recibirán una dosis D3 (1×10^{11} vp). Si no hay DLT relacionado, esta será la dosis para el resto del ensayo. Si hay toxicidad con</i>
--

D1, se intentaría un D0 de 5×10^9 vp. Cada paciente recibirá una sola infusión intravenosa de OMG a la dosis correspondiente.

b. Duración de la operación:

La duración de la intervención (administración por infusión intracraneal) se estima en alrededor de 3 horas y media (contando con procedimiento de anestesia).

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

El OMG VCN-01 se liberará exclusivamente para uso clínico, suministrado en viales cerrados y debidamente etiquetados, por personal médico y farmacéutico capacitado, y se realizará de acuerdo con el protocolo clínico y de conformidad con las buenas prácticas clínicas.

La preparación se llevará a cabo en una cabina de seguridad biológica de clase 2, que se descontaminará antes y después de manipularla con una solución a base de un desinfectante convencional (lejía, jabón o similar). La administración será realizada por personal médico específico y con la capacitación necesaria para trabajar en las prácticas de bioseguridad que se aplican al almacenamiento, transporte, preparación y administración de VCN-01, eliminación de desechos y manejo del paciente tratado.

Todos los desechos generados en la liberación, así como los restos de viales, agujas, guantes, etc. Se colocarán dentro de un contenedor de desechos tipo III (bio-sanitario, incluidos objetos punzantes). En caso de derrame accidental o inoculación del OMG, se llevará a cabo un conjunto de medidas preestablecidas contenidas en un protocolo. (Ver sección J.1 para más información).

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

Clima templado y condiciones climáticas controladas dentro del hospital.

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 (VCN-01) se está administrando actualmente en otros ensayos clínicos de fase I en España. Hasta la fecha, no ha habido ningún caso de infección con VCN-01 por parte del personal de salud en contacto con pacientes tratados, o por familiares de pacientes una vez que regresan a casa después de recibir VCN -01 en el hospital del sitio. Por lo tanto, no ha habido eventos adversos con un impacto en el medio ambiente o en la salud humana.

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

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales):	Primates
ii) Familia (plantas):	Hominidae
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	Homo sapiens
v) Subespecies:	Homo sapiens sapiens
vi) Cepa:	No aplica
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	No aplica
viii) Patovar:	No aplica
ix) Nombre vulgar:	Especie humana (con tumores)

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

El uso de VCN-01 en el marco de un ensayo clínico en pacientes con tumores cerebrales está destinado a causar cambios biológicos de estos tumores. Una vez que VCN-01 infecta una célula tumoral, el virus reconoce si la célula expresa altos niveles del factor de transcripción E2F-1 (característico de este tipo de célula) y, de ser así, el virus activa su maquinaria replicativa. Esto terminará matando la célula tumoral infectada y generará aprox. 10,000 copias de sí mismo que infectarán las células circundantes, donde reconocerán nuevamente si son tumorales o normales. Además, la expresión de hialuronidasa por VCN-01 favorecerá la propagación de la progenie viral y amplificará el efecto oncolítico. Los pacientes serán sometidos a cirugía y se recogerá la muestra del tumor.

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

VCN-01, como todos los otros adenovirus humanos, no puede replicarse fuera de un huésped humano. Aunque esto no excluye la posibilidad de infección a huéspedes no humanos, ya que VCN-01 no es capaz de replicar su genoma en el huésped no humano, el sistema inmunitario del receptor elimina rápidamente el virus. Además, no se ha demostrado que los adenovirus humanos nativos sean capaces de interactuar funcionalmente con células que no sean humanas. En consecuencia, no se esperan interacciones más allá de las previstas.

Además, de acuerdo con la liberación propuesta del OMG, es muy poco probable que entre en contacto con otras especies animales.

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese: Es defectuoso en células humanas normales y células de otras especies, y solo puede replicar células tumorales humanas.		

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

De acuerdo con las condiciones propuestas para la liberación del OMG, no se espera que VCN-01 interactúe con organismos distintos del objetivo, ya que tiene una selección muy limitada de huéspedes y debido a la forma propuesta para la liberación. Debido al hecho de que el hombre es el huésped exclusivo de HAd5, y que las modificaciones genéticas introducidas en VCN-01 no modifican la especificidad de la especie del virus, la probabilidad de transmisión productiva de VCN-01 a los animales es prácticamente nula. Y, en el improbable caso de que ocurra una administración involuntaria a organismos no diana, la selectividad propia del virus evitaría su propagación entre las células no tumorales.

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): No aplica; La probabilidad de transmisión productiva de NCV-01 a otras especies es prácticamente nula
ii) Familia (plantas): No aplica
iii) Género: No aplica
iv) Especie: No aplica
v) Subespecie: No aplica
vi) Cepa: No aplica
vii) Cultivar/línea de reproducción: No aplica
viii) Patovar: No aplica
ix) Nombre vulgar: No aplica

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: La probabilidad de transmisión horizontal del OMG a otras especies es muy baja.

b) De otros organismos al OMG: **No aplica**

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: **No aplica**

- 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 disponible

Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

La técnica más efectiva, fácil y sensible para detectar la posible diseminación en el medio mediante la excreción de VCN-01 por los pacientes (eliminación) de VCN-01 en el medio es RT-PCR con oligonucleótidos y sondas específicas para el genoma de VCN-01. Esta técnica permite evaluar los niveles de genomas de virus de diferentes tipos de muestra (fluidos biológicos del paciente; así como fluidos no biológicos: aguas residuales, etc.), que es una medida que permite evaluar tanto su presencia (medición puntual) como su capacidad de replicación / persistencia (mediciones consecutivas).

Al mismo tiempo, el seguimiento de los efectos directos e indirectos del OMG en los pacientes se realizará de acuerdo con el protocolo clínico a través de las evaluaciones clínicas habituales: exámenes físicos, evaluaciones oncológicas, etc. Además de informar eventos adversos y laboratorio clínico. evaluaciones a lo largo del estudio clínico para todos los pacientes

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Dada la baja probabilidad de infectar intencionalmente a sujetos no tratados y la replicación nula de VCN-01 en células de sujetos no afectados por cáncer, la posibilidad de que VCN-01 tenga repercusiones en el ecosistema circundante se considera irrelevante.

Además, el mismo OMG se está administrando en otros ensayos clínicos y hasta la fecha no ha habido ningún caso de infección con VCN-01 por parte del personal de salud en contacto con los pacientes tratados o por los familiares de estos pacientes una vez que regresan a casa después de recibir el OGM en el hospital del sitio.

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

No aplicable, ya que en condiciones naturales no es posible la transferencia estable de material a organismos distintos del hombre. Además, no se espera que VCN-01 interactúe con organismos distintos de los pacientes del estudio, debido a la liberación muy limitada al medio ambiente en las condiciones propuestas, la fugacidad de la presencia del genoma en células no humanas si se producen (debido a especificidad de especies de adenovirus humanos) y la selectividad de replicación por células tumorales VCN-01.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

El OMG se administrará a los pacientes mediante infusión intratumoral en la sala de cirugía. El seguimiento después de la administración de VCN-01 se realizará en una sola habitación del hospital del hospital correspondiente, hasta que el paciente sea dado de alta.

5. Duración del seguimiento

La duración del seguimiento de la seguridad del tratamiento es de 28 días, pero el

paciente tendrá un seguimiento de tres años.

6. Frecuencia del seguimiento

De acuerdo con el protocolo del estudio, se recolectarán y analizarán muestras de sangre y tumores del paciente. La determinación de VCN-01 en las muestras se realizará mediante la técnica RT-PCR, que se realizará en el laboratorio de estudio.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

En el contexto de esta solicitud, se considera que la "liberación del OMG" es el momento de la manipulación / preparación de VCN-01 y su administración al paciente.

En lugares donde el producto se prepara para inyección y se administra, se descontaminarán después de manipularlo con una solución a base de un desinfectante convencional (lejía, jabón o similar), dejando todo el equipo y las superficies de trabajo limpias y desinfectadas.

Los restos del tratamiento, así como cualquier material que haya estado en contacto directo con VCN-01 (agujas, viales vacíos o con restos de suspensión viral, gasa, guantes, bata desechable, etc.) deben colocarse dentro del contenedor para Residuos sanitarios tipo III (biosanitarios, incluidos los perforados) y la gestión de residuos será realizada por una empresa especializada.

La ropa o las sábanas usadas, así como el material para uso clínico, serán preferiblemente de un tipo desechable y una vez que finalice la administración, deben depositarse en un contenedor de bioseguridad o tipo III. Si no son desechables, se debe seguir el protocolo actual de limpieza y desinfección del hospital con respecto al manejo de productos biocontaminantes.

En caso de derrame o liberación accidental, se seguirá el procedimiento descrito en la sección I.1.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Para el tratamiento posterior a la liberación del OMG, consulte la sección I.3.b. Tratamiento de desechos.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

El tipo de desperdicio que se generará durante la prueba será:

- Material de la preparación de la solución VCN-01 para inyectar en los pacientes: viales vacíos y usados, así como el material utilizado para administrar el producto y el material de protección para el personal del hospital.
- Residuos del paciente: el material utilizado para recoger muestras de sangre / tumor del paciente después de la administración del producto.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los desechos mencionados en la sección anterior se colocarán en contenedores tipo III (que se habrán colocado previamente dentro de la habitación antes de cualquier manipulación), debidamente etiquetados y gestionados por una empresa especializada / acreditada.

I. 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

Todo el personal involucrado en el manejo del producto VCN-01 recibirá una descripción detallada de su preparación, así como las condiciones de eliminación de desechos y el procedimiento a seguir en caso de derrame accidental.

En caso de derrame accidental o inoculación del OMG, se llevará a cabo un conjunto de medidas preestablecidas contenidas en un protocolo. El personal de limpieza de derrames debe usar equipo de protección personal. Se aislará el área del derrame y la solución derramada se absorberá con toallas de papel desechables u otro material absorbente. Tratar con lejía al 5% y solución de hidróxido de sodio al 0,5% o solución de Virkon durante un período de 20-30 minutos. Todos los materiales de limpieza desechables utilizados en el sitio contaminado para recoger el material derramado se colocarán en una bolsa de plástico dentro del contenedor de desechos sanitarios Tipo III. El área se enjuagará con agua limpia usando toallas desechables adicionales, y nuevamente, estos residuos se colocarán en el mismo recipiente. Finalmente, el personal de limpieza de derrames debe quitarse los guantes (tirándolos en el mismo recipiente Tipo III) y lavarse las manos cuidadosamente con jabón y agua limpia. Después de la limpieza, no debe quedar material desechable en contacto con el virus o la posterior limpieza del área fuera del contenedor Tipo III. Esto se cerraría herméticamente y los residuos serían gestionados por una empresa acreditada.

Por otro lado, también se tendrá en cuenta que en caso de que un miembro del personal del hospital se pinche con una aguja que haya tenido contacto con el virus, se deben seguir los procedimientos estándar vigentes para este tipo de accidente. Además de informar al departamento de seguridad laboral y al responsable del estudio. Cualquier miembro del personal involucrado en el ensayo que se sienta mal debe informar tanto al departamento de seguridad ocupacional como al responsable del estudio.

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

Ver respuesta junto con la sección I.1.

La eliminación del OMM en áreas potencialmente afectadas se puede lograr usando un desinfectante activo (lejía, jabón o similar), dejándolo actuar durante aproximadamente 20-30 minutos antes de limpiar el área.

La ropa o las sábanas contaminadas deben depositarse en un contenedor de bioseguridad. Si no son desechables, se debe seguir el protocolo actual para el manejo de biocontaminantes.

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

Ver sección I.1 y I.2

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

Los pacientes serán seguidos por cualquier posible evento adverso o evento adverso grave de acuerdo con el protocolo clínico. Todos los eventos adversos graves serán registrados y evaluados por el personal del hospital y el patrocinador del estudio e informados a las autoridades de salud.

VCN-01 no produce infecciones en huéspedes que no sean humanos, no se integra en el genoma de la célula huésped y es más selectivo en comparación con HAd5. La probabilidad de que la administración de VCN-01 altere la dinámica de la población en la naturaleza es insignificante.

La infección por VCN-01 en sujetos no tratados no puede excluirse totalmente, aunque es muy poco probable. La experiencia hasta la fecha con el mismo OGM administrado a dosis más altas en otros ensayos clínicos indica que no ha habido ningún caso de infección con VCN-01 por parte del personal de salud o los familiares de los pacientes en contacto con los pacientes tratados. Además, la carga viral a la que estaría expuesta la población no tratada es significativamente baja que la dosis recibida por un paciente.

En caso de cualquier incidente o accidente, el patrocinador del estudio será informado de inmediato. También se informará a la Comisión Nacional de Bioseguridad y al Consejo Interministerial de OMG.