



ChAd155-hli-HBV

PARTEA 1 (DECIZIA CONSILIULUI 2002/813/CE)

**FORMULAR DE REZUMAT AL NOTIFICĂRII PRIVIND
INTRODUCEREA DELIBERATĂ ÎN MEDIU A ORGANISMELOR
MODIFICATE GENETIC, ALTELE DECÂT PLANTELE
SUPERIOARE, ÎN CONFORMITATE CU ARTICOLUL 11 DIN
DIRECTIVA 2001/18/CE**

**Notificatorul: PPD România S.R.L., part of Thermo Fisher Scientific
in numele sponsorului
GlaxoSmithKline Biologicals SA (GSK)
Rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, Belgium**

Numărul EudraCT: 2021-003567-10

Versiunea 2.0 – Iulie 2022

Cuprins

Lista abrevierilor	3
A. Informații generale	4
B. Informații privind organismul receptor sau parental din care s-a obținut OMG-ul	8
C. Informații privind modificarea genetică	13
D. Informații privind organismul (organismele) din care s-a obținut insertul	18
E. Informații privind organismul modificat genetic	19
F. Informații privind introducerea în mediu	23
G. Interacțiunile OMG-ului cu mediul și impactul potențial asupra mediului, în cazul în care sunt foarte diferite de cele ale organismului receptor sau parental	26
H. Informații privind monitorizarea	27
I. Informații post-introducere și privind tratarea deșeurilor	29
J. Informații privind planurile de intervenție în caz de urgență	29
Referințe	31

Lista abrevierilor

ACR	Adenovirusuri cu competență de replicare
Ad5	Adenovirus 5
ADN	Acid dezoxiribonucleic
AN	Analogi nucleoz(t)idici
AS01_{B-4}	Sistem adjuvant 01 _{B-4}
BGHpA	Semnal de poliadenilare a hormonului bovin de creștere
BPC	Bunele practici clinice
BPF	Bune practici de fabricație
BPL	Bune practici de laborator
CAB	Cromozom artificial bacterian
ChAd155	Adenovirus preluat de la cimpanzeu vector 155
FMDV	Virusul febrei aftoase
FTIH	Care vizează prima expunere umană
GSK	GlaxoSmithKline
HBC	Hepatită B cronică
HBc/Ag HBc	Hepatita B core/antigenul core al proteinei nucleocapsidice
HBs/Ag HBs	Antigenul de suprafață al hepatitei B/antigen de suprafață
HEK-293	Rinichi embrionar uman 293
hli	pac
huCMV	Citomegalovirus uman
IM	Intramuscular
IT-HBC	Imunoterapie țintită pentru hepatita B cronică
MHC	Complexul major de histocompatibilitate
MVA	Virusul Vaccinia Ankara modificat
MVS	Tulpina matcă a virusului
OAS	Oligonucleotidă antisens
OMG	Organism modificat genetic
ORF	Cadru deschis de citire
PNU	Primate non-umane
pv	Particule virale
qPCR	Reacție cantitativă de polimerizare în lanț
RSV	Virusul respirator sincițial
SM	Substanța medicamentoasă
TetO	Secvența operatorului pentru tetraciclină
UE	Uniunea Europeană
VHB	Virusul hepatitei B
VHC	Virusul hepatitei C

A. Informații generale

1. Precizări privind notificarea

- (a) Statul membru la care se referă notificarea ROMANIA
- (b) Numărul notificării B/RO/22/01
- (c) Data confirmării de primire a notificării 19.09.2022
- (d) Denumirea proiectului

Introducerea în mediu a organismului modificat genetic (OMG) va avea loc în timpul unui studiu clinic intitulat:

„Un studiu de fază 2, în regim simplu-orb, randomizat, controlat, multinațional, pentru evaluarea siguranței, reactogenității, eficacității și răspunsului imunitar în urma tratamentului secvențial cu o oligonucleotidă antisens (OAS) împotriva hepatitei B cronice (HBC), urmat de imunoterapie țintită pentru hepatita B cronică (IT-HBC) la pacienții cu HBC cărora li se administrează terapie cu analogi nucleoz(t)idici (AN).”

Numărul EudraCT al studiului este: 2021-003567-10, iar codul solicitantului pentru studiu este: 217023 (titlu abreviat: TH HBV ASO-001.)

- (e) Perioada propusă pentru introducerea în mediu
1 Sep 2022 - 30 Sep 2025

Faza de tratament a studiului clinic TH HBV ASO-001 va avea o durată de 9-12 luni, cu începere în T1 2022. Împreună cu perioada de urmărire de siguranță, durata totală a studiului pentru fiecare participant este de aproximativ 3 ani, studiul urmând să fie încheiat în T2 2025. Durata totală a studiului va fi de aproximativ 4 ani.

- 2. Notificator: PPD România SRL, part of Thermo Fisher Scientific in numele Sponsorului GlaxoSmithKline Biologicals SA (GSK)
Rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, Belgium
Denumirea instituției sau a societății:
PPD România SRL, part of Thermo Fisher Scientific
Bld. Preciziei 24, West Gate Business Centre, clădirea H5, etaj 2, cod poștal: 062204,
București, România

3. Caracterizarea OMG-ului

Numele OMG-ului este ChAd155-hli-HBV.

Mai jos este prezentat nomenclatorul propus pentru termenii utilizați în acest document:

- Organismul donator: organismul(ele) din care sunt derivate secvențele codificate de OMG.
- Organismul receptor: structura fundamentală a vectorului adenoviral ChAd155 „gol” (adică fără transgene), derivat de la simieni, cu replicare deficientă.
- Organismul parental: izolatul de adenovirus ChAd155 derivat din simian, cu competență de replicare, din care este derivată structura fundamentală a vectorului obținut.

- (a) Precizați dacă OMG-ul este un:
 - viroid (.)
 - virus cu ARN (.)
 - virus cu ADN (X)

bacterie	(.)
fungi	(.)
animal	
- mamifer	(.)
- insectă	(.)
- pește	(.)
- alt animal	(.)
precizați filumul, clasa	...

(b) Identitatea OMG-ului (gen și specie)

- (i) ordin: [Adenoviridae](#)
- (ii) gen: [Mastadenovirus](#)
- (iii) specie: [Adenovirus simian](#)
- (iv) subspecie: [Subgrupa C](#)
- (v) sușă: [Serotip 155](#)
- (vi) patovar: ...
- (vii) denumire comună: [ChAd155](#)

OMG-ul ChAd155-hli-HBV este o suspensie virală de vector viral de adenovirus din grupa C recombinant simian (derivat de la cimpanzeu), serotip 155 (ChAd155), cu replicare deficientă, care codifică o fuziune a secvențelor derivate din doi antigeni proteici ai virusului hepatitei B (VHB). Cele două proteine VHB sunt antigenul trunchiat al proteinei core nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase, care permite procesarea fuziunii HBc-HBs în antigeni proteici separați. În plus, capătul N-terminal al genei care codifică proteina HBc a fuzionat cu gena care codifică complexul major de histocompatibilitate (MHC) uman clasa II, asociat lanțului invariant, p35 izoform (hIi).

Structura fundamentală a vectorului viral ChAd155 (organismul receptor) este derivată dintr-un serotip 155 de adenovirus simian (organism parental) care a fost izolat de la un cimpanzeu tânăr sănătos din cadrul centrului de cercetare New Iberia (Universitatea din Louisiana, Lafayette, Louisiana, SUA). Genomul viral al izolatului parental a fost apoi clonat într-un vector plasmidic și modificat ulterior pentru a prezenta deleția regiunilor E1 și E4 și inserția E4orf6 derivată din adenovirusul uman de tip 5 (Ad5).

(c) Stabilitate genetică – în conformitate cu Anexa IIIa, II, A(10)

Adenovirusurile parentale au un caracter stabil în natură. OMG-ul (ChAd155-hli-HBV) este un adenovirus simian care, la administrarea la organismul-țintă, este localizat în nucleul celulei gazdă, dar ADN-ul său nu este integrat în genomul celulei-gazdă. Integrarea ADN-ului adenovirusului în genomul celulelor gazdă a fost observată extrem de rar, în unele culturi de linii celulare umane primare.

Structura genetică a vaccinului cu OMG este verificată în diferite etape ale procesului de producție, pentru demonstrarea integrității vectorului și a identității insertului, cum ar fi modelul de restricție și secvențierea ADN-ului întregului genom. Toate analizele de caracterizare genetică a produselor testate au indicat conformitatea cu secvențele prevăzute.

Unul dintre factorii care poate afecta stabilitatea genetică este apariția adenovirusurilor cu competență de replicare (ACR) în timpul procesului de fabricație. Este posibilă formarea ACR în urma recombinării omologe a vectorului viral ChAd155 și regiunea huAd5 E1 a celulei de producție. Deși riscul de producere a acestui eveniment este considerat foarte scăzut, materialul

ChAd155-hLi-HBV (tulpina matcă a virusului [MVS] și substanța medicamentoasă [SM]) este testat pentru detecția prezenței ACR utilizând o analiză ACR (specificație: < 1 RCA/3 x 10e10 particule virale [pv]). Confirmarea absenței ACR a fost demonstrată în toate loturile fabricate până în prezent.

Alți factori care pot afecta stabilitatea genetică sunt temperatura, lumina UV și procedurile de curățare, deoarece adenovirusurile sunt frecvent susceptibile la acțiunea acestora. Adenovirusurile pot supraviețui pentru perioade îndelungate pe suprafețe din mediu. Acestea sunt rezistente la acțiunea dezinfectanților lipidici (deoarece nu sunt învelite), dar sunt inactivate de căldură (>56°C) și de acțiunea altor dezinfectanți, inclusiv: soluție de hipoclorit de sodiu 1% (înălbitor diluat 1-10%), alcool etilic, glutaraldehidă 2%, dodecil sulfat de sodiu 0,25%.

Stabilitatea pe termen lung a materialului inițial MVS pentru ChAd155-hLi-HBV și a vaccinului cu OMG, atunci când sunt depozitate în stare congelată la temperaturi ≤de -60°C va fi urmărită în conformitate cu planurile de stabilitate predefinite până la 72 de luni, respectiv 96 de luni. Datele cu privire la stabilitate sunt disponibile în urma stocării timp de 60 de luni, care indică faptul că nu s-a produs nicio modificare a stabilității materialului inițial MVS. Datele cu privire la stabilitatea pe termen lung a vaccinului cu OMG au fost obținute pentru o perioadă de până la 60 de luni, în condiții de stocare la temperaturi < -60°C, ceea ce indică faptul că materialul îndeplinește specificațiile de stabilitate ale produsului pentru toată această perioadă.

Pe scurt, prin testarea efectuată în diferite etape ale procesului de producție s-a asigurat verificarea fenotipică și genotipică a stabilității genetice a materialului OMG, în raport cu standardele de referință.

4. Introducerea în mediu a aceluiași OMG este prevăzută și în alte state din Comunitate (în conformitate cu articolul 6 alineatul (1)), de către același notificator?

Da Nu

Dacă da, precizați codul (codurile) țării BE, BG, DE, ES, FR IT, PL

5. Același OMG a făcut obiectul unei notificări de introducere în mediu de către același notificator în alt stat din Comunitate?

Da Nu

Dacă da:

- Statul membru la care se referă notificarea BE, BG, DE, ES, FR, IT, PL
- Numărul notificării B/BE/21/BVW6
26-00-160/25Jan2022
B/ES/21/06

Vă rugăm să utilizați următoarele coduri ale țărilor:

Austria AT; Belgia BE; Germania DE; Danemarca DK; Spania ES; Finlanda FI; Franța FR; Marea Britanie GB; Grecia GR; Irlanda IE; Islanda IS; Italia IT; Luxemburg LU; Olanda NL; Norvegia NO; Portugalia PT; Suedia SE

6. Același OMG a făcut obiectul unei notificări de introducere în mediu sau de introducere pe piață în afara Comunității, de către același notificator sau de un altul?

Da Nu

Dacă da:

- | | |
|---|--|
| - Statul membru la care se referă notificarea | Hong Kong, Philippines, Singapore, Taiwan, Thailanda, Turkey, Regatul Unit |
| - Numărul notificării | N/A |

7. Rezumatul privind impactul potențial asupra mediului al introducerii în mediu de OMG-uri. Deși nu există date disponibile cu privire la impactul pe care îl are introducerea ChAd155-hIi-HBV asupra mediului, nu se preconizează că introducerea deliberată în mediu a OMG în cadrul acestui studiu clinic ar afecta alte persoane, flora sau fauna aflate în apropierea zonei de introducere sau la distanță de aceasta.

Probabilitatea scăzută ca vectorul ChAd155-hIi-HBV să devină persistent și invaziv în mediu în urma introducerii deliberate în cadrul acestui studiu clinic se bazează pe următoarele:

- *Stabilitate genetică ridicată:* Datorită lipsei expresiei prelungite a transgenei, adenovirusurile cu replicare deficientă au devenit vectori virali atractivi pentru dezvoltarea de vaccinuri. Acestea au un virion stabil, inserțiile de gene străine rămânând intacte, putând infecta multe tipuri diferite de celule. Vectorul ChAd155 care va fi utilizat în studiul clinic propus este caracterizat de replicare deficientă și poate transduce doar celule animale. În plus, genomul adenovectorului continuă să fie epicromozomial, evitându-se astfel riscul integrării ADN-ului viral în genomul gazdei după infectarea celulelor gazdă (Feuerbach et al. 1996).
- *Absența adenovirusului cu competență de replicare (ACR):* riscul apariției ACR în urma recombinării omologe între vectorul viral ChAd155 și a regiunea E1 Ad5 umană a celulei-gazdă este considerat foarte scăzut, din cauza lipsei omologiei secvențelor între regiunile de flancare E1 umane ale adenovirusului Ad5 uman și E1 ale adenovirusului preluat de la cimpanzeu. S-a demonstrat că recombinarea și producția de ACR nu au loc atunci când acestea se propagă în celule renale embrionare umane (HEK-293) (Colloca et al. 2013), eliminându-se astfel problema generării ACR în timpul fabricației adenovectorului. În plus, vaccinul ChAd155-hIi-HBV este testat pentru detecția prezenței ACR în diferite etape ale procesului de fabricație (consultați Secțiunea A.3.(c)).
- *Absența replicării:* ChAd155-hIi-HBV nu poate supraviețui în afara unei celule gazdă (animale), deoarece vectorul este caracterizat de replicarea deficientă.
- *Procese de fabricație controlate:* Pentru a reduce la minimum introducerea în mediu a virusului din vaccinul vectorial recombinant, fiecare vaccin este produs în condiții de bune practici de fabricație (BPF), cu manipularea materialului viu în unități de laborator corespunzătoare. Această măsură este luată pentru ca orice introducere a organismului modificat să fie izolată, iar materialul inactivat și incinerat, folosind echipament de unică folosință cât mai mult posibil, pentru a se evita introducerea în mediu a materialului genetic modificat.
- *Biodistribuție limitată:* S-a efectuat un studiu de biodistribuție în conformitate cu Bunele practici de laborator (BPL) cu vaccinul ChAd155-hIi-HBV la șobolani Sprague-Dawley, după administrarea intramusculară, a unei doze unice, a 1010 pv (1/5 din doza umană vizată în 100μl) prin măsurarea prezenței ADN-ului vectorului cu ajutorul reacției cantitative de polimerizare în lanț (qPCR) la nivelul mai multor țesuturi, la 24 de ore, la 7, 28 și 48 de zile de la administrare. ChAd155-hIi-HBV a fost detectat la locul injecției (mușchi) și în ganglionul limfatic iliac timp de până la 48 de zile după tratament. Expunerea sistemică la ChAd155-hIi-HBV a fost demonstrată la nivelul ganglionului limfatic inghinal și al splinei timp de până la 48 de zile după tratament și în sânge și la nivelul ganglionului limfatic popliteu timp de până la 24 de ore după tratament. La efectuarea necropsiei, efectele au indicat imunogenitatea la vaccinul candidat ChAd155-hIi-HBV.

- *Experiența clinică indică un risc scăzut de excreție virală:* Adenovirusurile recombinante cu deficiențe au fost utilizate pe scară largă în studiile clinice, fie prin administrare directă, fie în cadrul unor strategii bazate pe terapie celulară (în celule). În majoritatea studiilor efectuate nu s-a detectat excreția virală în probele biologice (spută, salivă, urină, materii fecale), iar când aceștia au fost detectați în urină sau salivă prin analiza PCR, au dispărut la câteva zile după administrare. După administrarea unui adenovirus simian similar cu deleție E1/E4 (ChAd3), dar care exprima o transgenă a virusului hepatitei C, nu s-a observat excreția vectorului viral (în urină și în tampoanele de recoltare a exsudatului faringian) după imunizarea intramusculară cu adenovirus preluat de la cimpanzei sau uman (studiul clinic VHC-001, număr EudraCT: 2007-004259-12).
- *Managementul centrului de studiu clinic:* Introducerea OMG-ului va avea loc în timpul desfășurării studiului clinic, în cursul căruia se va administra vaccinul într-un spital sau într-o clinică. Personalul de studiu clinic va fi instruit cu privire la prepararea, administrarea și eliminarea deșeurilor rezultate asociate OMG-ului, pentru a minimiza diseminarea și transmiterea accidentală. Materialele utilizate în timpul administrării OMG-ului vor fi tratate ca deșeuri cu risc biologic și eliminate în conformitate cu orientările instituționale.
- *Mod de administrare în cadrul studiului clinic:* Deoarece eliberarea este planificată în timpul unui studiu clinic și acesta va fi administrat pacienților pe cale intramusculară, este foarte puțin probabil ca OMG-ul să intre în contact cu mediul.
- *Absența toxicității:* S-a efectuat un studiu de toxicitate cu doză unică, în conformitate cu BPL, de toleranță locală la iepuri neozeelandezi albi, cu ChAd155-hIi-HBV administrat concomitent cu HBc-HBs/Adjuvant System 01_{B-4} (AS01_{B-4}) sau Vaccinia Ankara modificat (MVA)-HBV administrat concomitent cu HBc-HBs/AS01_{B-4}, prin injecție intramusculară. Componentele testate au fost bine tolerate la nivel local, fără să existe semne de toxicitate sistemică. Semnele observate la examinarea la microscop (inflamație și degenerarea/necroza miofibrilelor) pot fi atribuite în principal MVA-HBV. S-a efectuat un studiu de toxicitate cu doze repetate, în conformitate cu BPL, pentru a se investiga toleranța locală și toxicitatea sistemică a diferitelor scheme de pre-imunizare/rapel (prime-boost) cu HBc-HBs/AS01_{B-4}, ChAd155-hIi-HBV și MVA-HBV, administrate pe cale intramusculară la iepuri neozeelandezi albi masculi și femele. Tratamentele au fost administrate secvențial sau concomitent, la intervale de 2 săptămâni. Nu s-au raportat informații privind mortalitatea în timpul perioadei principale a studiului și în perioada de recuperare. Toate schemele de vaccinare au fost bine tolerate din punct de vedere clinic, toate constatările perioadei in vivo au fost în concordanță cu reacția inflamatorie care poate apărea după administrarea vaccinurilor.

În concluzie, potențialul unui impact negativ asupra mediului înconjurător cauzat de introducerea OMG-ului este neglijabil.

B. Informații privind organismul receptor sau parental din care s-a obținut OMG-ul

Rețineți că, în secțiunea următoare, informațiile referitoare la organismul receptor (vectorul „gol” obținut (adică fără transgenă)) și organismul parental (organismul din care este derivat vectorul obținut) sunt furnizate atunci când este necesar.

1. Caracterizarea organismului receptor sau parental:

(a) Precizați dacă organismul receptor sau parental este:

- viroid (.)
- virus cu ARN (.)
- virus cu ADN (X)

bacterie (.)
fungi (.)
animal
- mamifer (.)
- insectă (.)
- pește (.)
- alt animal (.)
(precizați filumul, clasa...)
alta, precizați...

2. Denumire

- (i) ordin: [Adenoviridae](#)
(ii) gen: [Mastadenovirus](#)
(iii) specie: [Adenovirus simian](#)
(iv) subspecie: [Subgrupa C](#)
(v) sușă: [Serotip 155](#)
(vi) patovar (biotip, ecotip, rasă etc.):
(vii) denumire comună: [ChAd155](#)

[Organismul parental este adenovirusul preluat de la cimpanzeu. Organismul receptor conține deleții la nivelul regiunilor E1 și E4 și o substituție a E4 nativ cu E4ORF6 din adenovirusul uman 5 \(Ad5\).](#)

3. Distribuția geografică a organismului

- (a) Autohton sau stabilit în țara în care se face notificarea:
Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
- (b) Autohton sau stabilit în alte țări ale CE:
(i) Da (.)
Dacă da, precizați tipul de ecosistem în care se găsește:
Atlantic ..
Mediterranean ..
Boreal ..
Alpin ..
Continental ..
Macaronezian ..
(ii) Nu (X)
[Organismul receptor este obținut în laborator și nu se găsește în mediu.](#)
(iii) Nu se știe (.)
- (c) Este folosit frecvent în țara în care se face notificarea?
Da (.) Nu (X)
- (d) Este păstrat frecvent în țara în care se face notificarea?
Da (.) Nu (X)

4. Habitatul natural al organismului

- (a) Dacă organismul este un microorganism
apă (.)
sol, stare liberă (.)

sol, în simbioză cu sistemul radicular al unei plante (.)
în simbioză cu frunzele sau cu sistemul peduncular al unei plante (.)
alta, precizați

Gazda naturală a adenovirusului ChAd155 este cimpanzeul. Adenovirusul parental ChAd155 nu se găsește în ecosistemul natural în afara gazdei sale naturale.

Organismul receptor este un adenovirus cu replicare deficientă preluat de la cimpanzeu, modificat în laborator. Acesta nu se găsește în ecosistemele naturale. Acesta a fost obținut pe o linie celulară pe bază de HEK-293 cu completarea E1 pentru propagarea virusurilor cu deleții ale genelor esențiale pentru replicare, cum ar fi E1 și E4.

(b) Dacă organismul este un animal: habitatul natural sau ecosistemul agricol natural:
Nu este cazul

5. (a) Tehnici de detecție
Detecția OMG-ului se efectuează cu ajutorul unei reacții în lanț a polimerazei (PCR), cu seturi specifice de primeri.

(b) Tehnici de identificare
PCR menționată la punctul B.5.(a) de mai sus permite și identificarea OMG-ului.
Analizele suplimentare pentru identificare cuprind:
○ Secvențierea completă a ADN-ului genomului.
○ Analiza fragmentului cu restricții.
○ Se evaluează expresia transgenei prin analiza Western blot (utilizând anticorpii anti-HBc și anti-HBs) pentru a garanta identitatea OMG-ului în etapele finale de fabricație.

6. Organismul receptor a făcut obiectul unei clasificări în conformitate cu normele comunitare existente privind protecția sănătății umane și/sau a mediului?

Da (X) Nu (.)

Dacă da, precizați...

În ceea ce privește clasificarea pericolului, adenovirusul uman este clasificat ca agent biologic din grupa 2 în conformitate cu clasificarea Comunității Economice Europene pentru protecția lucrătorilor împotriva riscurilor legate de expunerea la agenți biologici (Directiva 2000/54/CE). Clasificarea în grupa 2 se aplică agenților care pot cauza boli la om și care pot reprezenta un pericol pentru lucrători, cu probabilitate scăzută de răspândire în comunitate și pentru care există de obicei metode profilactice sau tratamente disponibile.

Cu toate acestea, nici organismele parentale și nici cele receptoare (adenovirusul simian cu deleția genei E1, care prezintă, prin urmare, o replicare deficientă) nu sunt clasificate în mod specific în directiva CEE. Dată fiind incapacitatea adenovirusului simian de a cauza boli la om și a rezultatele studiilor de toxicitate desfășurate care au demonstrat siguranța și tolerabilitatea, se consideră că OMG-ul nu prezintă un risc pentru sănătatea umană. S-au utilizat anterior, în studii clinice la om, vectori similari ai adenovirusului simian recombinant cu transgene diferite, iar autoritățile de reglementare competente i-au clasificat drept agenți de biosiguranță de nivel 1 pentru desfășurarea studiului clinic.

7. Organismul receptor, viu sau mort, este patogen sau dăunător în orice alt fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Dacă da:

(a) pentru care dintre organismele următoare:

oameni (.)
animale (.)
plante (.)
altele (.)

(b) furnizați informațiile relevante prevăzute în Anexa III A, punctul II. A alineatul (11) litera (d) din Directiva 2001/18/CE

Adenovirusurile sunt încadrate în Clasa 2, în conformitate cu Directiva 2000/54/CE, datorită patogenității limitate. Adenovirusurile umane cauzează în mod obișnuit infecții asimptomatice la oameni, dar pot cauza și infecții ale tractului respirator, disconfort gastrointestinal sau infecții oculare cu severitate variabilă. Acestea sunt mai frecvente la copii și la populația imunocompromisă. Perioada de incubație variază între 1 și 10 zile. Majoritatea populației este seropozitivă pentru mai multe subspecii de adenovirus și poate produce rapid anticorpi de neutralizare. Gazda principală este omul, iar doza minimă infecțioasă este de > 150 unități formatoare de plăci, intranasal. În mod normal, virusul ajunge în tractul respirator sau în ochi prin aerosolii produși de persoanele infectate. Majoritatea infecțiilor sunt minore și autolimitante. De obicei, adenovirusurile nu se integrează în genomul celulelor gazdă și nu persistă la nivelul țesuturilor limfoide. Adenovirusul se poate transmite de la o persoană la alta pe cale fecal-orală, prin picături respiratorii, prin transfer de la mână la ochi și prin contact sexual.

Infecțiile cu adenovirus la primatele non-umane (PNU) sunt, de asemenea, predominant subclinice, cu excepția unor cazuri de pneumonie la animale imunodeprimite infectate cu virusul imunodeficienței simiene (SIV). Adenovirusurile recombinante cu deficiențe au fost utilizate pe scară largă în studiile clinice, fie prin administrare directă, fie în cadrul unor strategii bazate pe terapie celulară (în celule). Adenovirusurile fără competență de replicare și din care lipsește E1 au fost încadrate în clasa 1 de biosiguranță pentru activități de cercetare și dezvoltare.

Organismul receptor, structura fundamentală ChAd155, prezintă o deficiență de replicare și este o specie derivată de la cimpanzei, și, prin urmare, se consideră că nu are caracter patogenic pentru oameni sau pentru alte organisme nevizate. În plus, adenovirusurile nu se integrează în genomul gazdei și nu prezintă un risc de activare a provirusului latent.

În ultimul rând, studiile de toxicitate (cu doză unică și repetată) desfășurate într-un mediu în conformitate cu BPL au arătat că schemele de imunizare în care s-a folosit ChAd155-hli-HBV au fost bine tolerate clinic, precum și că nu s-a demonstrat niciun efect toxic sistemic.

8. Informații privind reproducerea

(a) Timpul de generare în ecosistemele naturale:

Nu este cazul. Organismul receptor cu replicare deficientă nu este generat în ecosistemele naturale.

(b) Timpul de generare în ecosistemul în care va avea loc introducerea:

Nu este cazul. Organismul receptor cu replicare deficientă nu va fi generat în ecosistemul în care va avea loc introducerea.

(c) Modul de reproducere: Sexuată ... Asexuată ...

Nu este cazul.

(c) Factorii care afectează reproducerea:

Nu este cazul.

9. Capacitatea de supraviețuire

(a) capacitatea de a forma structuri care să contribuie la supraviețuire sau la latență:

- (i) endospori (.)
- (ii) chisturi (.)
- (iii) scleroți (.)
- (iv) spori asexuați (fungii) (.)
- (v) spori sexuați (fungii) (.)
- (vi) ouă (.)
- (vii) pupe (.)
- (viii) larve (.)
- (ix) alta, precizați

OMG-ul este caracterizat de o replicare deficientă și s-au efectuat teste riguroase pentru a garanta faptul că produsul nu conține niciun adenovirus cu competență de replicare (ACR).

(b) factori relevanți care afectează capacitatea de supraviețuire:

Deși adenovirusurile pot supraviețui timp de până la 8 săptămâni pe suprafețe din mediu la temperatura ambiantă, OMG-ul este caracterizat de o replicare deficientă și nu se preconizează că ar supraviețui, că s-ar înmulți sau că s-ar dispersa după diseminarea acestuia în timpul studiului clinic propus. Mai mult, prezența adenovirusului cu competență de replicare (ACR) este evaluată pentru substanța medicamentoasă sub forma unui test pentru controlul calității. OMG-ul va fi administrat prin injecție intramusculară (IM). Atunci când se utilizează această cale de administrare, studiile arată că excreția virală și răspândirea virusului la alte țesuturi sunt limitate, deoarece vectorul virusului rămâne localizat la locul injecției (Sheets et al. 2008). În cazul puțin probabil în care există excreție virală sau scurgeri accidentale, deși adenovirusurile sunt rezistente la dezinfectanți lipidici deoarece nu sunt învelite, acestea sunt inactivate de acțiunea agenților chimici obișnuiți (de ex. hipoclorit de sodiu, înălbitor diluat 1-10%). De asemenea, virusul este susceptibil la inactivarea prin acțiunea căldurii și autoclavare la 121° C timp de 15 minute. Se preconizează că se aplică factori identici pentru OMG.

10. (a) Moduri de diseminare

Adenovirusurile se transmit eficient prin contact direct cu aerosolii contaminați și cu picăturile de apă și indirect prin contactul cu obiecte contaminate cu secrețiile respiratorii ale unei persoane infectate. Doza minima infecțioasă de adenovirus este de 150 de unități formatoare de plăci, atunci când se administrează intra-nazal. De asemenea, adenovirusul se poate răspândi și pe cale fecală-orală.

Deoarece introducerea se va produce în timpul unui studiu clinic desfășurat în conformitate cu bunele practici clinice (BPC), se vor lua măsuri de precauție pentru a minimiza producerea de aerosoli în timpul manipulării, preparării și administrării OMG-ului. De asemenea, orice suprafețe sau obiecte contaminate vor fi neutralizate imediat cu dezinfectanți adecvați pentru adenovirusuri și se vor implementa procedurile standard de operare din cadrul centrelor investigationale pentru decontaminarea deșeurilor cu risc biologic, prevazute și în protocolul studiului clinic.

Un studiu de biodistribuție desfășurat în conformitate cu BPL a demonstrat că, după injectarea intramusculară, OMG-ul a fost găsit în locul injectării (mușchi) și în nodulul limfatic iliac timp de până la 48 de zile după tratament. Expunerea sistemică la ChAd155-hIi-HBV a fost demonstrată la nivelul ganglionului limfatic inghinal și al splinei timp de până la 48 de zile după tratament și în sânge și la nivelul ganglionului limfatic popliteu timp de până la 24 de ore după tratament. La efectuarea necropsiei, efectele au indicat imunogenitatea la componenta ChAd155-hIi-HBV a vaccinului candidat.

De reținut că în timpul studiilor clinice nu s-a observat nicio excreție în condițiile utilizării OMG-urilor derivate din alte tulpini de adenovirus simian (Wold et al. 2013).

(b) Factori care afectează diseminarea

Factorii care afectează introducerea adenovirusurilor includ doza administrată, formarea de aerosoli și proximitatea gazdelor neinfectate susceptibile față de subiecții imunizați.

Prin respectarea cu strictețe a măsurilor de siguranță care trebuie să fie adoptate în timpul manipulării, preparării și administrării OMG-ului în timpul studiului clinic, așa cum se specifică în protocolul clinic, se va putea controla în mod adecvat orice posibilă răspândire a OMG-ului.

11. Modificări genetice anterioare ale organismului receptor sau parental care au făcut deja obiectul unei notificări de introducere în mediu în țara în care se face notificarea (precizați numărul notificării)
N/A

C. Informații privind modificarea genetică

1. Tipul de modificare genetică

- | | | |
|-------|------------------------------|-----|
| (i) | inserție de material genetic | (X) |
| (ii) | deleție de material genetic | (X) |
| (iii) | substituție de bază | (.) |
| (iv) | fuziune celulară | (.) |
| (v) | alta, precizați ... | |

2. Rezultatul preconizat al modificării genetice

Scopul modificărilor genetice descrise mai jos este dezvoltarea unui vector adenoviral simian recombinant cu replicare deficientă care să fie capabil să exprime doi antigeni proteici ai virusului hepatitei B (VHB) în celulele infectate și să activeze un răspuns imunitar specific antigenului HB la nivelul gazdei. Cele două proteine VHB sunt antigenul trunchiat de bază al proteinei nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase, care permite procesarea fuziunii HBc-HBs în antigeni proteici separați. În plus, capătul N-terminal al genei care codifică proteina HBc a fuzionat cu gena care codifică complexul major de histocompatibilitate (MHC) uman, clasa II asociat lanțului invariant p35 izoform (hIi), care acționează ca adjuvant genetic în raport cu antigenul asociat și care va ajuta la inducerea unui răspuns imun mai puternic specific antigenului HB la nivelul gazdei.

Sistemul vectorului ChAd155 a fost obținut prin introducerea delețiilor în regiunile E1 și E4 ale genomului viral și substituția regiunii native E4 cu cadrul deschis de citire (ORF) 6 al regiunii E4 a adenovirusului uman de tip 5, structura fundamentală ChAd155 prezentând astfel o replicare deficientă.

ADN-ul transgenei hli-HBV a fost clonat într-un vector bifuncțional controlat de promotorul citomegalovirusului uman (huCMV) și de semnalul de poliadenilare a hormonului bovin de creștere (BGHpA), expresia acestuia putând fi controlată prin represorul bacterian care prezintă sensibilitate la tetraciclină (Stanton et al. 2008). Caseta expresiei transgenei a fost introdusă în structura fundamentală ChAd155 prin recombinare omologă în *E. coli* SW102. Virusul ChAd155-hli-HBV rezultat a fost introdus într-o linie celulară derivată din HEK-293 prin transfecție și apoi a fost amplificat suplimentar prin transferuri în serie.

Rezultatul vizat pentru vectorul cu OMG este ca acesta să devină o abordare terapeutică pentru pacienții care suferă de VHB cronică, care va induce un răspuns imunitar puternic la nivelul anticorpilor, al celulelor T CD4+ și CD8+ la antigenii HBe și HBs.

3. (a) S-a utilizat un vector la efectuarea modificării?
Da Nu
Dacă nu, treceți direct la întrebarea 5.
- (b) Dacă da, vectorul este integral sau parțial prezent în organismul modificat?
Da Nu
Dacă nu, treceți direct la întrebarea 5.

4. Dacă răspunsul la întrebarea 3(b) este da, precizați următoarele informații

(a) Tipul vectorului

Doi vectori sunt luați în considerare aici:

plasmidă	<input checked="" type="checkbox"/> (plasmidă cu transgena hli-HBV)
bacteriofag	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cosmidă	<input type="checkbox"/>
transpozon	<input type="checkbox"/>

alta, precizați

Vector cu cromozom artificial bacterian (BAC) (organism receptor)

(b) Identitatea vectorului

ADN-ul transgenei hli-HBV a fost sintetizat și clonat într-un vector bifuncțional (plasmidă) controlat de promotorul huCMV, TetO fiind inserat în aval de caseta TATA a promotorului huCMV și de BGHpA.

S-au utilizat tehnici standard de manipulare a ADN-ului în *E. coli* (clonare directă și recombinare omologă) pentru a clona genomul viral ChAd155 într-un vector cu cromozom artificial bacterian (BAC) și pentru a modifica vectorul plasmidic în sensul introducerii deleției regiunilor native E1 și E4, precum și a introducerii regiunii Ad5E4orf6. Transgena Hli-HBV a fost apoi introdusă în plasmida BAC/ChAd155 ($\Delta E1$, $\Delta E4_Ad5E4orf6$) prin etape de recombinare diferite la *E. coli*.

(c) Ansamblul de gazde ale vectorului

Vectorii se vor replica în tulpina de laborator de *E. coli*. Vectorul adenovirus final se poate apoi replica numai în celulele care exprimă E1 (cum ar fi celulele HEK 293 completate cu E1).

- (d) Prezența în vector a secvențelor care produc un fenotip selectabil sau identificabil
Da Nu

rezistența la antibiotice (X)

Gena rezistenței la kanamicină din plasmida care conține caseta transgenei și gena rezistenței la ampicilină din vectorul BAC

alta, precizați:

Casetă de selecție Amp-LacZ-SacB în vectorul BAC

Precizați care este gena rezistentă la antibiotice inserată

O genă a rezistenței la kanamicină este introdusă în plasmida care exprimă caseta transgenei. Cu toate acestea, după recombinația omologă cu vectorul care conține genomul viral ChAd155 modificat, gena rezistenței la kanamicină nu este prezentă în vectorul adenovirus recombinat final.

În timpul procesului se introduce în vectorul BAC o casetă de selecție care include gena SacB, gena rezistenței la ampicilină și lacZ (casetă de selecție Amp-LacZ-SacB). Cu toate acestea, această casetă de selecție Amp-LacZ-SacB este înlocuită de caseta transgenei VHB și, prin urmare, nu este prezentă în OMG-ul final.

(e) Fragmente constitutive ale vectorului

Fragmentul de ADN inserat ca transgenă în vectorul adenovirusului preluat de la cimpanzeu (ChAd155) codifică secvențele derivate din antigenul trunchiat core al proteinei nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase, care permite procesarea fuziunii HBc-HBs în antigeni proteici separați. În plus, capătul N-terminal al genei care codifică proteina HBc a fuzionat cu gena care codifică complexul major de histocompatibilitate (MHC) uman, clasă II a lanțului invariant, p35 izoform (hli). Plasmida care exprimă transgena hli-HBV conține și promotorul huCMV cu tetO inserat în aval de caseta TATA a promotorului huCMV pentru a asigura controlul transcripției transgenei în timp ce se află pe linia celulară de împachetare, precum și BGHPA.

Genomul viral ChAd155 a fost clonat într-un vector bifuncțional BAC prin recombinație omologă în *E. coli*. S-au efectuat modificări genetice ulterioare pentru a efectua deleția genelor E1 și E4 și pentru a înlocui E4 nativ cu E4ORF6 din adenovirusul uman de tip 5 (Ad5).

(f) Metoda de introducere a vectorului în organismul receptor

- | | | |
|-------|-------------------|--|
| (i) | transformare | (.) |
| (ii) | electroporare | (.) |
| (iii) | macroinjectare | (.) |
| (iv) | microinjectare | (.) |
| (v) | infecție | (.) |
| (vi) | altele, precizați | ... recombinație omologă în <i>E. coli</i> |

5. Dacă răspunsul la întrebarea B.3(a) și (b) este nu, care a fost metoda utilizată la efectuarea modificării?

- | | | |
|-------|--------------------|-----|
| (i) | transformare | (.) |
| (ii) | microinjectare | (.) |
| (iii) | microîncapsulare | (.) |
| (iv) | macroinjectare | (.) |
| (v) | alta, precizați... | |

6. Compoziția insertului

(a) Compoziția insertului transgenic

Fragmentul de ADN inserat sub forma transgenei hIi-HBV în vectorul adenovirusului preluat de la cimpanzeu (ChAd155) codifică secvențele derivate din doi antigeni proteici ai VHB: antigenul trunchiat core al proteinei nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase, care permite procesarea fuziunii HBc-HBs în antigeni proteici separați. În plus, capătul N-terminal al genei care codifică proteina HBc a fuzionat cu gena care codifică complexul major de histocompatibilitate (MHC) uman clasa II, asociat lanțului invariant, p35 izoform (hIi).

Clivarea proteazei mediată de regiunea 2A se produce la nivelul capătului C al 2A, chiar în fața ultimei proline a secvenței de aminoacizi. Prolina rămâne la nivelul capătului N al proteinei HBs, iar cei 23 de aminoacizi precedenți în raport cu locul clivării prolinei rămân la nivelul polipeptidei hIi-HBc-2A. La capătul N al regiunii 2A (18 aminoacizi) s-a adăugat un spațiator format din 6 aminoacizi; s-au raportat situații în care spațiatoarele de acest fel au crescut eficiența clivării mediate de 2A.

Expresia transgenei, după procesarea proteazei, are astfel drept rezultat generarea a două polipeptide separate: hIi-HBc-spacer-2A și HBs. Din rațiuni de concizie, polipeptida hIi-HBc-spacer-2A va fi denumită proteina hIi-HBc în întregul dosar.

(b) Originea fiecărei părți constitutive a insertului

Antigenii HBc și HBs sunt derivați din virusul hepatitei B. S-au identificat cel puțin nouă genotipuri (de la A la I) ale VHB, cu diferențe de peste 8% la nivelul genomului. Într-un anumit genotip VHB s-au identificat mai multe subtipuri ale genotipului care diferă în proporție de 4-8%. Secvențele care codifică antigenii HBc și HBs sunt derivate din genotipul/subtipul A2. Regiunea 2A este derivată din virusul febrei aftoase. Secvența hIi este derivată din gena umană codificată pentru CD74, denumită și lanțul invariant uman (hIi), care acționează ca adjuvant genetic pentru optimizarea răspunsului imunitar al celulelor T CD8+ la antigenul HBc.

(c) Funcția prevăzută pentru fiecare parte componentă a insertului în OMG

Funcția prevăzută a insertului genic care exprimă antigenii hIi-HBc și HBs este provocarea unui răspuns imunitar specific antigenului (în special celulele T CD8+ și, într-o măsură mai mică, celulele T CD4+) pentru a inhiba AgHBs până la un nivel care să permită reconstituirea imunității funcționale împotriva VHB în hepatocitele infectate, având drept rezultat un control virologic susținut în perioada în care nu se administrează tratamentul.

Motivarea selecției antigenilor pentru vaccin:

Controlul eficient al infecției cu VHB, așa cum este observat după remisia infecției acute cu VHB, este asociat cu inducția și persistența celulelor T helper și citotoxice care țintesc diferite proteine VHB și producția de anticorpi ai anvelopei anti-HBV (Bertoletti et al. 2013).

ChAd155-hIi-HBV include o transgenă care codifică atât proteinele HBc, cât și proteinele HBs. S-au identificat cel puțin nouă genotipuri (de la A la I) ale VHB, cu diferențe de peste 8% la nivelul genomului. Într-un anumit genotip VHB s-au identificat mai multe subtipuri ale genotipului care diferă în proporție de 4-8%. În vaccinul ChAd155-hIi-HBV, secvențele HBc și HBs sunt cele din genotipul/subtipul A2.

Proteina corehepatita B (HBc): HBc joacă un rol cheie în formarea nucleocapsidelor care împachetează genomul VHB în citoplasma celulelor infectate în timpul replicării virale. Secvența HBc este păstrată în mare măsură în genotipurile și subtipurile VHB. Răspunsul celulelor sistemului imunitar, specific antigenului core VHB (AgHBc) și, într-o măsură mai mică, altor antigeni VHB, joacă un rol important în controlul și remisia VHB. S-a demonstrat că există o corelație între inducția celulelor T CD8+ care țintesc antigenul HBc (AgHBc) și, într-o măsură mai mică, antigenii de suprafață ai hepatitei B (HBs) și ai polimerazei hepatitei B (HBpol), și clearance-ul infecțiilor acute și cronice (Li et al. 2011, Liang et al. 2011, Boni et al. 2012, Block et al. 2017).

Proteina de suprafață, hepatita B (HB): HBs este principalul antigen de suprafață și conține determinanții antigenici esențiali (care definesc genotipul), precum și unii dintre epitopii cheie ai celulelor B păstrați în genotipuri care sunt responsabili pentru inducerea răspunsurilor de neutralizare extinse (Bhatnagar et al. 1982, Ryu et al. 1997). Clearance-ul AgHBs, împreună cu apariția anticorpilor anti-HBs, reprezintă un marker al remisiei infecției cu hepatita B. S-a stabilit, în mare parte, eficacitatea anticorpilor Ag HBs (anti-HBs) în prevenirea infecției cu VHB. Deși secvența HBs este variabilă în genotipuri, HBs este deja inclusă în familia intens studiată a vaccinurilor profilactice comercializate de GSK pentru hepatita B (Engerix B™ (adulti și copii), Fendrix™, Twinrix™ (adulti și copii)/Ambirix™ și Infanrix hexa™), cu privire la care s-a demonstrat că asigură protecția împotriva hepatitei B, indiferent de genotipuri.

Lanțul invariant uman (hIi): Lanțul invariant uman (hIi), cunoscut și sub denumirea de CD74 atunci când este exprimat pe membrana plasmatică, este o proteină membranară de tip II conservată evolutiv, care îndeplinește mai multe roluri în celulă și în sistemul imunitar per ansamblu (Borghese et al. 2011). hIi se asociază cu MHC clasa II lanțurile α și γ și dirijează transportul complexelor $\alpha\beta$ Ii către endozomi și lizozomi, exercitându-și funcția principală în procesul de prezentare a antigenilor. S-a demonstrat că Ii contribuie la creșterea prezentării MHC de clasă I a peptidelor antigenice atunci când sunt legate genetic de un antigen, ceea ce duce la celule T cu răspuns îmbunătățit, cel mai probabil prin țintirea transportului acestui antigen către compartimentele endozomilor/lizozomilor.

S-a demonstrat existența răspunsurilor îmbunătățite și susținute ale celulelor T CD8+ la șoareci și la primate non-umane, utilizându-se un vaccin adenoviral bazat pe vector care codifică o proteină de fuziune a antigenului țintă cu hIi (Capone et al. 2014). Prin urmare, pentru a crește și mai mult nivelul inducerii răspunsurilor celulelor T CD8+ specifice antigenului de către componenta ChAd155-hIi-HBV a vaccinului candidat, fragmentul de ADN care codifică hIi a fuzionat la capătul N-terminal cu ADN-ul care codifică HBcAg al transgenei VHB, pentru a acționa ca un adjuvant genetic al HBcAg. S-a demonstrat că primingul ChAd155-hIi-HBV induce un răspuns mai puternic la nivelul celulelor T CD8+ specifice antigenului de bază, comparativ cu o structură fără hIi, în cadrul testelor la șoareci transgenici umani clasa MHC I/II.

- (d) Localizarea insertului în organismul gazdă
- pe o plasmidă liberă (.)
 - integrat în cromozom (.)
 - altele, precizați integrat in genomul adenovirusului
- (e) Insertul conține părți al căror produs sau funcție nu este cunoscută?
- Da (.) Nu (X)

Dacă da, precizați ...

D. Informații privind organismul (organismele) din care s-a obținut insertul

1. Precizați dacă este:

- | | |
|--------------|--------------------------------------|
| viroid | (.) |
| Virus cu ARN | (X) virusul febrei aftoase (FMDV) |
| Virus cu ADN | (X) virusul hepatitei B umane (VHB) |
| Bacterie | (.) |
| Fung | (.) |
| animal | |
| - mamifere | (X) uman: fragment care codifică hli |
| - insectă | (.) |
| - pește | (.) |
| - alt animal | (.) |
- (precizați filumul, clasa...)

alta, precizați

2. Denumire completă

Pentru virusul hepatitei B umane (VHB):

- | | |
|--|---------------------------------|
| (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) | ... |
| (ii) denumirea familiei | Hepadnaviridae |
| (iii) gen | Orthohepadnavirus |
| (iv) specie | virusul hepatitei B umane (VHB) |
| (v) subspecie | ... |
| (vi) sușă | ... |
| (vii) cultivar/linie genealogică | ... |
| (viii) patovar | ... |
| (ix) denumire comună | VHB |

Pentru virusul febrei aftoase (FMDV):

- | | |
|--|----------------|
| (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) | Picornavirales |
| (ii) denumirea familiei | Picornaviridae |
| (iii) gen | Aphthovirus |
| (iv) specie | ... |
| (v) subspecie | ... |
| (vi) sușă | ... |
| (vii) cultivar/linie genealogică | ... |
| (viii) patovar | ... |
| (ix) denumire comună | FMDV |

Pentru om: fragment care codifică hli

- | | |
|--|-----------|
| (j) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) | Primate |
| (ii) denumirea familiei | Hominidae |
| (iii) gen | Homo |
| (iv) specie | sapiens |
| (v) subspecie | ... |
| (vi) sușă | ... |
| (vii) cultivar/linie genealogică | ... |

(viii) patovar ...
(ix) denumire comună om

3. Organismul, viu sau neviu, este patogen sau dăunător în orice alt fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da (X) Nu (.) Nu se știe (.)

Dacă da, precizați următoarele:

(a) pentru care dintre organismele următoare:

oameni (X)

animale (X)

plante (.)

altele ...

(b) secvențele donate au vreun rol în proprietățile patologice sau dăunătoare ale organismului

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Dacă da, precizați informațiile relevante în conformitate cu Anexa III A, punctul II A, alineatul 11 litera (d):

4. Organismul donator este clasificat în conformitate cu normele comunitare existente privind protecția sănătății umane și a mediului, precum Directiva 90/679/CEE privind protecția lucrătorilor împotriva riscurilor care decurg din expunerea la agenții biologici la locul de muncă?

Da (X) Nu (.)

Dacă da, precizați

VHB a fost încadrat, ca și alte hepadnavirusuri, în Clasa 3 în conformitate cu Directiva 2000/54/CE. cu mențiunea că VHB prezintă un risc limitat de infecție a lucrătorilor, deoarece în mod normal acesta nu se transmite pe cale aeriană. Familia Picornaviridae a fost încadrată în Clasa 2 în conformitate cu Directiva 2000/54/CE. FMDV nu a fost încadrată în mod specific în conformitate cu Directiva 2000/54/CE.

5. Organismul donator și organismul receptor schimbă material genetic în mod natural?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

E. Informații privind organismul modificat genetic

1. Trăsăturile genetice și caracteristicile fenotipice ale organismului receptor sau parental care au fost schimbate ca urmare a modificării genetice

(a) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al capacității de supraviețuire?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Precizați ...

(b) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al modului și/sau al ratei de reproducere?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Precizați ...

(b) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al diseminării?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Precizați ...

(c) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al patogenității?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Precizați ...

2. Stabilitatea genetică a organismului modificat genetic

[A se vedea secțiunea A.3.\(c\)](#)

3. OMG-ul, viu sau neviu, este patogen sau dăunător în orice fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

[OMG-ul este caracterizat de replicare deficientă și nu este considerat patogen pentru gazdă sau pentru organismele nevizate.](#)

(a) pentru care dintre următoarele organisme?

oameni (.)

animale (.)

plante (.)

altele ...

(b) precizați informațiile relevante prevăzute în Anexa III A, punctul II A, alineatul 11 litera (d) și punctul II C alineatul (2) punctul (i)

[Pentru informațiile relevante prevăzute în Anexa III A, punctul II A, alineatul 11 litera \(d\), în conformitate cu secțiunile B.7\(b\) și D.3.\(b\).](#)

[Nu se preconizează că OMG-ul ar avea efecte toxice sau alergene. La fel ca toate vaccinurile injectabile, este posibil să apară reacții alergice sistemice imediate la imunizare. Acestea sunt însă foarte rare și se estimează că apar o dată la fiecare 450.000 până la o dată la 1.000.000 de imunizări, pentru vaccinuri care nu conțin alergeni cum ar fi gelatina sau proteina din ou \(Zent et al. 2002\). Pentru a putea trata subiecții de studiu cu o reacție alergică sistemică imediată la imunizare, toți pacienții trebuie să rămână sub observație \(să fie monitorizați vizual, fără efectuarea de proceduri specifice\) la centrul de studiu timp de cel puțin 60 de minute după imunizare. În cadrul centrelor trebuie să fie disponibilă o trusă de prim ajutor pentru reacții anafilactice. În urma imunizării prin administrare intramusculară \(IM\) se manifestă frecvent o reacție inflamatorie locală, tranzitorie și autolimitantă. În general, imunizarea poate conduce la reacții locale la locul injectiei, cum ar fi durerea, înroșirea și umflarea. Este posibil să apară și reacții sistemice, cum ar fi febra, oboseala, durerile de cap, mialgia, artralgia sau frisoanele. Aceste reacții au de obicei un caracter tranzitoriu.](#)

[Studiul propus este un studiu de fază II; OMG-ul propus \(ChAd155-hli-HBV; formule de vaccin cu doze similare și mai mici\) este evaluat în prezent într-un studiu care vizează prima expunere umană \(numărul EudraCT: 2017-001452-55\). Până la blocarea bazei de date, stabilită pentru data de 18 mai 2021 \(perioada de urmărire de siguranță cu o durată de 64 până la 673 de zile de la prima imunizare pentru formulele cu doză mai mică administrate unui număr de 13 subiecți și de 15 până la 143 de zile de la prima imunizare pentru formulele cu doză similară administrate unui număr de 37 de subiecți\), nu s-au raportat evenimente adverse de natura bolii hepatice sau hematologice semnificative, potențiale boli mediate de sistemul imunitar și evenimente adverse grave. De asemenea, nu s-au detectat semnale de siguranță în cadrul parametrilor clinici de laborator evaluați. Sunt disponibile date clinice de la tipuri similare de](#)

vaccinuri candidat, care susțin siguranța utilizării vaccinului ChAd155-hIi-HBV în schema de vaccinare propusă.

Vaccinul candidat ChAd155-RSV a fost evaluat la adulți sănătoși și la populația pediatrică. Într-un studiu de fază I s-a administrat unui număr total de 72 de adulți sănătoși cel puțin 1 doză de ChAd155-RSV, 55 de subiecți au primit cele 2 doze necesare la interval de 1 lună, iar 55 de subiecți au finalizat studiul. Având în vedere datele de siguranță disponibile în cadrul acestui studiu, nu s-au identificat probleme semnificative privind siguranța. În cadrul unui studiu de fază I/II de creștere a dozei, de evaluare a siguranței/reactogenității și imunogenității, s-au evaluat 3 niveluri de doză de vaccin ChAd155-RSV administrate în conformitate cu un program 0-1 lună la copii seropozitivi, cu vârste cuprinse între 12 și 23 de luni la imunizare. Rezultatele studiului, care au inclus o perioadă de până la 366 de zile de urmărire pentru 78 de participanți imunizați, nu ridică motive de îngrijorare legate de datele cu privire la reactogenitate sau siguranță (blocarea bazei de date: iunie 2020).

Vaccinurile ChAd3-based care utilizează alți imunogeni (de ex., VHC și Ebola) au fost evaluate în studii clinice la care au participat până la 2.800 de subiecți și au fost bine tolerate. S-a testat administrarea ChAd3-VHC pentru pre-imunizare, urmat de o doză de rapel cu MVA-VHC, la 245 de subiecți sănătoși și la 14 pacienți cu VHC cronică. S-au observat reacții ușoare locale și sistemice care s-au intensificat odată cu administrarea dozei, dar care au fost de scurtă durată (Barnes et al. 2012, Swadling et al. 2014). Vaccinurile candidat pentru VHC ChAd3-hIiNSmut și MVA-hIiNSmut au fost administrate unui număr de șaptesprezece voluntari sănătoși într-un studiu de fază I în curs vizând prima expunere umană (Esposito et al. 2020). Până în octombrie 2019, nu s-au raportat EAG la subiecții cărora li s-au administrat vaccinurile VHC cu adjuvant hIi. Majoritatea EA raportate după imunizarea cu ChAd3-hIiNSmut au fost ușoare până la moderate și au dispărut în decurs de 3 zile de la imunizare. 270 de subiecți au fost imunizați cu un vaccin candidat ChAd3-Ebola în cadrul a patru studii clinice de fază I (doze cuprinse între 1×10^{10} e și 1×10^{11} pv), în care siguranța a fost evaluată cu atenție.

În studiile de toxicitate cu doză repetată la iepuri albi neozeelandezi, cărora li s-au administrat vaccinuri candidat care conțineau adenovirusuri recombinante umane tip 5 și tip 35 care conțineau transgene diferite, printre care s-au numărat HIV, Ebola și Marburg, parametrii hematologici care au părut să fie afectați de administrarea de adenovectori au fost hemoglobina, hematocritul, trombocitele și volumul plachetar mediu (Sheets et al. 2008). În studiile de Fază I pentru Ebola la adulți cărora li s-a administrat vaccinul candidat ChAd3-Ebola Zaire, s-au observat scăderi tranzitorii ale numărului de trombocite. Aceste scăderi s-au produs în cea mai mare parte în ziua 1 după imunizare, revenindu-se în general la nivelul înregistrat la intrarea în studiu până în ziua 7. Deși majoritatea acestor scăderi s-au încadrat în intervalul valorilor normale, criteriile per protocol pentru trombocitopenie (adică numărul de trombocite $< 150 \times 10^3/\mu\text{l}$) au fost îndeplinite pentru 2,6% (7 din 271) dintre subiecții imunizați. Scăderile numărului de trombocite sau cazurile de trombocitopenie nu au fost semnificative clinic (adică nu s-au raportat semne clinice sau simptome care să sugereze o tendință crescută de sângerare, la niciunul dintre subiecți). Deși mecanismul care cauzează aceste scăderi este în prezent neclar, în literatura de specialitate se descrie pe larg faptul că, după administrarea intravenoasă, adenovirusul activează trombocitele și induce agregarea trombocitară și leucocitară, cauzând o creștere a microparticulelor derivate din trombocite și leucocite (Othman et al. 2007; Stone et al. 2007).

ChAd155-hIi-HBV include o codificare a secvenței ADN pentru CD74, numită și lanț invariant (hIi). Deoarece hIi este un auto-antigen exprimat la nivelul întregului sistem imunitar de

celulele B, celulele T activate, celulele dendritice, monocite și macrofage și exprimat pe scară largă la nivelul timusului, acesta ar trebui să fie bine tolerat. Cu toate acestea, riscul ca vaccinul ChAd155-hIi-HBV să inducă un răspuns imunitar împotriva hIi și o potențială boală mediată imunitar nu poate fi exclus în totalitate; acest risc va fi monitorizat îndeaproape pe durata desfășurării studiului clinic.

În cursul evoluției naturale a bolii, clearance-ul viral al VHB se produce prin mecanisme imunologice care pot fi asociate cu puseuri de acutizare a hepatitei și, în unele cazuri rare, pot conduce la insuficiență hepatică fulminantă. Este posibil ca afectarea hepatică să fie declanșată de controlul ineficient al celulelor T și recrutarea celulelor inflamatorii (macrofage) în timpul evoluției bolii. Atunci când răspunsul celulelor T CD8+ specifice VHB nu poate controla replicarea virusului, acesta poate contribui la patologia hepatică, nu numai direct, ci și prin recrutarea celulelor T nespecifice-virusului, în timp ce, în prezența unui răspuns eficient al celulelor T CD8+ specifice VHB, inhibarea replicării virusului poate fi independentă de afectarea ficatului (Maini et al. 2000). Un aspect important este faptul că citokinele pot media clearance-ul viral fără a afecta direct hepatocitele (Phillips et al. 2010). De asemenea, s-au implementat mai multe mecanisme pentru a controla activarea „exuberantă” a celulelor T și pentru a asigura protecția împotriva insuficienței hepatice (IL-10, arginază, PD1 și alte căi de co-inhibare). Strategia de imunizare propusă are drept scop inducerea unui răspuns puternic în ceea ce privește anticorpilor, celulele T CD4+ și celulele T CD8+ la antigenii selectați; răspunsul puternic al anticorpilor și răspunsul puternic al celulelor T CD4+ (dar nu și al celulelor T CD8+) au fost deja observate în studiile anterioare la pacienții cu HBC și nu s-au raportat puseuri de acutizare ale hepatitei care să pună în pericol viața pacienților (Vandepapelière et al. 2007).

S-au testat mai multe tipuri de vaccinuri la pacienții cu HBC, inclusiv: proteine recombinante cu sau fără adjuvanți, imunocomplexe HBs-anti-HBs, ADN urmat de vaccinarea cu MVA în regim pre-imunizare/rapel și vaccin pe bază de drojdii care exprimă proteine recombinante. În aceste studii nu s-au raportat probleme de siguranță, dar vaccinurile au fost în general ineficiente în ceea ce privește controlul virusului (Michel et al. 2015). Profilul de siguranță a fost acceptabil și când s-au testat vaccinurile pe bază de vectori virali cu imunogeni VHC la pacienți cu VHC cronică, însă vaccinul nu a indus răspunsuri ale celulelor T specifice virusului la pacienții infectați cu VHC (Swadling et al. 2016).

Având în vedere riscul de insuficiență hepatică care poate fi declanșată de răspunsul imunitar indus de vaccin, acest studiu de fază II va fi efectuat la pacienți adulți cu HBC (cu vârste cuprinse între 18 și 65 de ani) cu risc scăzut de puseuri de acutizare, adică pacienți cu HBC care urmează și care respectă un tratament cu o AN cu efect de barieră pronunțat în raport cu rezistența (de exemplu, entecavir, fumarat de tenofovir disoproxil și tenofovir alafenamidă) și cu boală hepatică stabilizată timp de cel puțin 6 luni (terapie cu AN stabilă, cu control al valorilor analizelor de biochimie [alanin-aminotransferază] și control viral). Pacienții vor fi monitorizați îndeaproape pentru a detecta orice potențială problemă de siguranță.

Toate datele non-clinice disponibile sugerează că componenta ChAd155-hIi-HBV a vaccinului candidat are profiluri acceptabile de imunogenitate, biodistribuție, tolerabilitate/toxicitate pentru desfășurarea studiului clinic.

Deși adenovirusurile umane pot cauza mai multe infecții la populația imunocompromisă, ca adenovirus caracterizat de replicare deficientă, OMG ChAd155-hIi-HBV nu este, prin urmare, considerat ca având caracter patogenic la om.

În plus, OMG-ul nu prezintă un risc de integrare sau de activare a provirusului latent.

Având în vedere replicarea deficientă, nu se preconizează că OMG-ul ar avea capacitate de colonizare. În timpul fabricării de loturi clinice în conformitate cu BPF, în decursul mai multor ani, Solicitantul nu a observat niciun eveniment de ACR în timpul evaluării controlului calității pentru prezența ACR în fiecare lot de material clinic.

În cele din urmă, OMG nu exprimă gene rezistente la antibiotice, excluzându-se astfel modelele de rezistență la antibiotice

4. Descrierea metodelor de identificare și detecție

(a) Tehnici utilizate la detecția OMG-ului în mediu

Nu există tehnici planificate pentru detecția și identificarea OMG-ului în mediul înconjurător în contextul studiului clinic propus.

(b) Tehnici utilizate la identificarea OMG-ului

Identitatea ChAd155-hIi-HBV este confirmată prin secvențierea ADN-ului genomului complet. Testarea identității vectorului și insertului se efectuează și în mai multe etape ale procesului de fabricație a produsului, folosind diverse metode, printre care se numără PCR, analizele restricțiilor și expresia transgenei prin analiza Western blot.

F. Informații privind introducerea în mediu

1. Scopul introducerii în mediu (inclusiv potențiale avantaje ecologice importante prevăzute)

Scopul introducerii în mediu este evaluarea siguranței, imunogenității și eficacității creșterii dozelor de vaccin candidat în cadrul unui studiu clinic de fază 2 la pacienți adulți care suferă de HBC, care prezintă un risc scăzut de exacerbare severă a hepatitei, care urmează un tratament cu analogi nucleoz(t)idici (AN). ChAd155-hIi-HBV a fost dezvoltat pentru a inhiba AgHBs până la un nivel care să permită reconstituirea imunității funcționale împotriva VHB la nivelul hepatocitelor infectate, având drept rezultat un control virologic susținut în perioada în care nu se administrează tratamentul. În studiu se vor înrola aproximativ 184 de pacienți, dintre care 138 vor primi aceeași formulă de ChAd155-hIi-HBV. În România sunt planificați spre înrolare 14 pacienți.

OMG-ul va fi introdus în mediu în timpul unui studiu clinic, la centrele de studiu identificate, sub supravegherea Investigatorilor principali, în cadrul unui studiu clinic internațional multicentric.

Introducerea efectivă presupune administrarea OMG-ului subiecților de studiu prin injecție intramusculară. Introducerea se va efectua în încăperile special desemnate pentru aceasta din cadrul spitalului sau al clinicii. Introducerea va fi efectuată de personal calificat și instruit corespunzător. Personalul care manipulează produsul va primi instrucțiuni detaliate privind prevenirea contaminării cu vaccinul. Nu se preconizează beneficii semnificative pentru mediu în urma introducerii OMG-ului în cursul acestui studiu clinic.

2. Situl introducerii este diferit de habitatul natural sau de ecosistemul în care organismul receptor sau parental este utilizat, păstrat sau găsit în mod normal?

Da (X) Nu (.)

Dacă da, precizați ...

Adenovirusurile simiene nu se găsesc în mod natural în mediul specific localizării geografice din zona centrelor de studiu clinic în care va avea loc administrarea OMG-ului.

3. Informații privind introducerea în mediu și zona înconjurătoare

- (a) Localizare geografică (regiune administrativă și, după caz, coordonatele geografice ale acesteia):

OMG-ul ChAd155-hli-HBV va fi administrat în timpul studiului clinic propus în cadrul următoarelor centre din România

Centrul de studiu Adresa
România
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca, Str. Iuliu Moldovan nr. 23, Cluj Napoca, jud. Cluj
Spitalul clinic de Boli Infecțioase și Pneumoftiziologie «Victor Babes», Str Calea București, nr 64, Craiova, jud. Dolj
Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie «Prof. Dr. Octavian Fodor», Str Croitorilor 19-21; Cluj Napoca, jud.Cluj

- (b) Dimensiunea sitului (m²): ... m²

(i) situl efectiv de introducere (m²): ... m²

Nu este necesar un sit de dimensiuni specifice pentru introducere. Introducerea în mediu a OMG-ului va avea loc într-o sală de examinare dintr-un spital sau dintr-o clinică de dimensiuni standard, din fiecare dintre instituțiile clinice indicate.

(ii) zona afectată de introducere (m²): ... m²

Nu se preconizează că introducerea în mediu ar afecta o zonă de dimensiuni mai mari.

- (c) Proximitatea față de biotopurile sau zonele protejate recunoscute pe plan internațional (inclusiv rezervoare de apă potabilă) care ar putea fi afectate:

Nu este cazul, deoarece introducerea în mediu va avea loc în timpul unui studiu clinic desfășurat în spitale/clinici.

- (d) Flora și fauna, inclusiv culturile, șeptelul și speciile migratoare care ar putea interacționa cu OMG-ul

Nu este cazul, deoarece introducerea în mediu va avea loc în timpul unui studiu clinic desfășurat în spitale/clinici.

4. Metoda de introducere și amploarea acesteia

- (a) Cantitățile de OMG-uri care urmează să fie introduse:

În ceea ce privește introducerea totală a OMG-ului, dacă luăm în considerare numărul de subiecți din cohorta de tratament cu ChAd155-hli-HBV, doza administrată și numărul de injecții per subiect, cantitatea estimată totală de OMG care va fi introdusă în toate centrele de studiu clinic, în toate țările, pe durata studiului, este echivalentă cu 6,9 x 10¹² pv. Având în vedere că 14 pacienți sunt luați în considerare pentru includerea în studiul din România, se preconizează eliberarea a maximum 7 x 10¹¹ pv de OMG.

- (b) Durata operațiunii:

Perioada de introducerea în mediu a OMG-ului include perioada care începe cu primul pacient și prima imunizare și care se încheie cu imunizarea ultimului pacient. Deși durata exactă a introducerii va depinde de procesul de recrutare în studiu, se estimează că studiul planificat va dura aproximativ 40 de luni.

- (c) Metode și proceduri de evitare și/sau de minimalizare a propagării OMG-urilor în afara sitului de introducere

OMG va fi utilizat exclusiv în scop clinic, în conformitate cu prevederile protocolului clinic. Cantitatea de ChAd155-hIi-HBV furnizată centrului în orice moment este limitată la cantitatea necesară pentru administrarea la pacienți și accesul la produs este permis numai personalului autorizat. Calea de administrare va reduce la minimum orice potențiale excreții virale de la pacient.

OMG-ul urmează a fi furnizat centrelor de studiu în flacoane sigilate, etichetate și ambalate corespunzător. Prepararea și administrarea produsului trebuie să fie efectuate de personal instruit, sub supravegherea Investigatorului, în conformitate cu un protocol clinic și respectând regulile specificate în Bunele practici clinice (BPC).

Zona utilizată pentru prepararea OMG-ului pentru injectare va fi decontaminată înainte și după manipulare, folosindu-se o soluție dezinfectantă standard. Toate transferurile preparatului care conține OMG trebuie să fie efectuate folosind recipiente închise. În plus, personalul de studiu va respecta politica recomandată a clinicii sau a spitalului cu privire la manipularea OMG.

Toate flacoanele, acele și seringile goale de vaccin împotriva OMG-urilor trebuie colectate în recipiente destinate deșeurilor cu risc biologic, după finalizarea pregătirii și administrării vaccinului pentru fiecare subiect. La reconciliere și gestionare, materialele de studiu utilizate și vaccinurile de studiu neutilizate vor fi distruse în urma procedurilor instituției de eliminare a materialului cu risc biologic.

În caz de raspandire accidentală, pe suprafețele contaminate se vor aplica dezinfectanți adecvați. Materialele contaminate vor fi îndepărtate din încăperea și păstrate în recipiente etanșe sau în pungi speciale care vor fi etichetate în mod clar drept deșeuri medicale cu risc biologic.

5. Scurtă descriere a condițiilor climatice medii (vreme, temperatură etc.)
Nu este cazul. Toate administrările OMG-ului trebuie să fie efectuate în încăperi convenționale din spitale/clinici din cadrul instituțiilor clinice specificate.
6. Informații relevante privind, după caz, introducerile anterioare în mediu ale aceluiași OMG, în special din punctul de vedere al impactului potențial al introducerii asupra mediului și asupra sănătății umane.
Studiile clinice efectuate cu OMG-uri recombinante similare care conțin alte transgene (de ex. malarie, Ebola, VHC) nu au ridicat semne de întrebare legate de siguranță. Nu s-au raportat efecte adverse semnificative, iar OMG-ul pare să fie în general sigur și bine tolerat.

OMG-ul este administrat în cadrul unui studiu în curs care vizează prima expunere umană (număr EudraCT: 2017-001452-55). Datele de siguranță până la blocarea bazei de date, stabilită pentru data de 18 mai 2021, nu au indicat nicio problemă legată de siguranță.

G. Interacțiunile OMG-ului cu mediul și impactul potențial asupra mediului, în cazul în care sunt foarte diferite de cele ale organismului receptor sau parental

1. Denumirea organismelor-țintă (după caz)
 - (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) ...
 - (ii) denumirea familiei (pentru plante) ...
 - (iii) gen *Homo*
 - (iv) specie *sapiens*
 - (v) subspecie ...
 - (vi) sușă ...
 - (vii) cultivar/linie genealogică ...
 - (viii) patovar ...
 - (ix) denumire comună *om*

2. Mecanismele anticipate și rezultatul interacțiunilor dintre OMG-urile introduse și organismul-țintă (după caz)

OMG-ul ChAd155-hli-HBV este un vaccin pe bază de vector viral recombinant care transportă antigenii VHB relevanți, cu privire la care se preconizează că ar mobiliza atât răspunsul imun umoral, cât și răspunsul imun celular ale gazdei în conformitate cu secțiunea C.6(c).

3. Orice alte interacțiuni potențial importante cu alte organisme din mediu
Posibilitatea transferului de gene către alte specii este minimă în condițiile diseminării clinice propuse a OMG-ului. OMG-ul va fi administrat subiecților într-o încăpere standard din spitale/clinici și este puțin probabil să intre în contact cu alte specii de animale.
Caracteristicile fenotipice ale vectorului ChAd155 reprezintă un alt mecanism care, de asemenea, limitează orice probabilitate de transfer al genelor, prin aceea că acesta este caracterizat de o replicare deficientă și, ca atare, nu este patogen.

Pentru schimbul de gene virale între OMG și genomul altor specii de adenovirus de tip sălbatic, celulele susceptibile trebuie să fie infectate simultan cu adenovirusul simian de tip sălbatic, fapt care este foarte puțin probabil. Deși transmiterea adenovirusurilor între specii (în special între primat uman și primat non-uman) nu este încă bine stabilită, este foarte probabil ca posibilele evenimente de transmisie orizontală a acestor virusuri între oameni și PNU să se producă în locuri în care există contact fizic între PNU și oameni, cum ar fi grădinile zoologice și alte facilități destinate animalelor (Wevers et al. 2011).

În plus, informațiile genetice de la nivelul OMG continuă să fie epicromozomiale la nivelul celulelor infectate, evitându-se astfel orice risc de integrare a ADN-ului viral în genomul gazdei.

4. Este posibilă apariția unei selecții ulterioare introducerii, precum competitivitatea crescută sau o mai accentuată capacitate de proliferare a OMG-ului?
Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
Detaliați
Comparativ cu adenovirusul simian parental, OMG-ul a fost modificat, fiind caracterizat de o replicare deficientă și nu există motive care sprijină ideea conform căreia adăugarea transgenei hli-HBV la OMG ar promova orice selecție ulterioară diseminării pentru o capacitate de proliferare mai accentuată.

5. Tipuri de ecosisteme în care OMG-ul se poate propaga din situl de introducere și în care se poate stabili
Dat fiind contextul introducerii propuse a OMG-ului, în care OMG-ul este administrat subiecților într-o sală de examinare închisă dintr-un spital sau dintr-o clinică, este puțin probabil ca OMG-ul să intre în contact cu orice organisme nevizate din ecosistem.
În cazul administrării neintenționate la organisme nevizate, diseminarea ulterioară este puțin probabilă, deoarece OMG nu poate finaliza un ciclu de replicare și nu este virulent, nefiind capabil de diseminare la organisme țintă sau organisme nevizate.
6. Denumirea completă a organismelor nevizate care (ținând seama de tipul mediului receptor) pot fi, deși neintenționat, afectate într-o măsură semnificativă de introducerea OMG-ului
- | | |
|--|-----|
| (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) | ... |
| (ii) denumirea familiei pentru plante | ... |
| (iii) gen | ... |
| (iv) specie | ... |
| (v) subspecie | ... |
| (vi) sușă | ... |
| (vii) cultivar/linie genealogică | ... |
| (viii) patovar | ... |
| (ix) denumire comună | ... |
- Nu este cazul. Există posibilitatea ca personalul de studiu să fie injectat accidental cu OMG-ul (de exemplu, leziune cauzată de înțeparea cu acul). Deoarece administrarea vaccinului va fi efectuată de personal medical calificat și instruit corespunzător, probabilitatea ca această situație să apară și riscul inerent asociat acesteia sunt considerate minime. De asemenea, transmiterea secundară către membrii familiei pacienților este considerată puțin probabilă.
7. Probabilitatea unui transfer genetic in vivo
- (a) de la OMG la alte organisme din ecosistemul afectat de introducerea în mediu:
Acest lucru este foarte puțin probabil din aceleași motive, descrise mai sus în Secțiunea G.3
- (b) de la alte organisme la OMG:
Acest lucru este foarte puțin probabil din aceleași motive, descrise mai sus în Secțiunea G.3.
- (c) consecințe probabile ale transferului de gene:
Nu există date disponibile. Cu toate acestea, studiile de toxicitate au exclus orice efect toxic sau patogenic al OMG.
8. Indicați rezultatele relevante (dacă există) ale studiilor cu privire la comportamentul și caracteristicile OMG-ului și la impactul său ecologic, realizate în medii naturale stimulate (de exemplu, microcosmosuri etc.):
Nu există date disponibile.
9. Interacțiuni posibile, importante din punct de vedere ecologic, cu procesele biogeochimice (dacă sunt diferite față de organismul receptor sau parental)
Nu este cazul.

H. Informații privind monitorizarea

1. Metode de monitorizare a OMG-urilor

Monitorizarea efectelor OMG-ului administrat asupra subiecților în perioada de introducere propusă se va efectua prin evaluări clinice (de exemplu, examen fizic, raportarea evenimentelor adverse), analize de biochimie sanguină și evaluări imunologice, conform descrierii din protocol.

Evaluarea siguranței pentru toți subiecții care participă la studiul clinic se va efectua pe durata introducerii propuse a OMG-ului și va continua timp de 24 de luni după ultima injecție.

În timpul desfășurării studiului clinic, va fi planificată monitorizarea OMG-urilor va fi planificată de personal responsabil de mediu sau de studiu care va specifica aria zonei care urmează să fie monitorizată. Monitorizarea include verificarea întregii documentații de la fața locului pe baza unei "liste de verificare a responsabilului OMG", în timpul vizitelor de monitorizare. Aceasta verificare include documentația de certificare a centrului, existența numirii responsabilului local de biosecuritate, evidența instruirii corespunzătoare a personalului, evidența incidentelor raportate, a răspândirii etc. Mai multe detalii privind monitorizarea sunt descrise în Manualul operational de proceduri de studiu (SPM) pus la dispoziția fiecărui centru.

2. Metode de monitorizare a efectelor asupra ecosistemului

Nu s-au dezvoltat metode suplimentare pentru monitorizarea efectelor OMG-ului asupra ecosistemelor.

Date fiind condițiile propuse pentru introducerea clinică a OMG-ului, excreția virală limitată observată la OMG-uri și natura OMG-ului cu replicare deficientă, caracterizat de lipsa răspândirii, probabilitatea ca OMG-ul să interacționeze cu organismele nevizate din mediu este scăzută. Pe baza argumentelor de mai sus, nu s-a planificat monitorizarea ecosistemului pe durata studiului clinic propus.

3. Metode de detecție a transferului materialului genetic donat, de la OMG la alte organisme

Probabilitatea transferului materialului genetic donat către alte organisme este neglijabilă în conformitate cu secțiunea G.7. de mai sus). Nu se vor utiliza metode suplimentare pentru a detecta orice transfer de material genetic de la OMG la alte organisme în timpul introducerii propuse.

4. Suprafața zonei monitorizate (m²)

... m²

Nu este cazul. OMG-ul este administrat numai subiecților de studiu prin injecție intramusculară, în camere special desemnate pentru aceasta din cadrul fiecărui centru de studiu.

5. Durata monitorizării

În conformitate cu secțiunea H.1, evaluările de siguranță vor fi efectuate pe toată durata participării pacientului la studiul clinic și până la finalizarea studiului și va continua timp de 24 luni după ultima injecție.

6. Frecvența monitorizării

În conformitate cu graficul furnizat în protocolul studiului clinic, subiecții vor fi monitorizați periodic sub aspectul siguranței și al rezultatului clinic în timpul vizitelor planificate pe parcursul perioadei de introducere a OMG-ului și în timpul perioadei de urmărire programate după ultima imunizare. S-au programat douăzeci și cinci de vizite de monitorizare în cele 29

de săptămâni ale fazei de imunizare și în cele 92 de săptămâni de urmărire de siguranță per pacient.

I. Informații post-introducere și tratarea deșeurilor

1. Tratarea sitului după introducere

Camera (camerele) spitalului sau clinicii care au fost utilizate pentru administrarea vaccinului cu OMG vor fi curățate cu un dezinfectant adecvat imediat după administrare, în conformitate cu procedurile descrise în protocolul studului clinic și a procedurilor standard de operare din cadrul centrelor investigationale

În caz de răspândire sau contaminare accidentală, toate suprafețele contaminate trebuie să fie tratate în conformitate cu procedurile descrise în protocolul studului clinic și a procedurilor standard de operare din cadrul centrelor investigationale referitoare la produsele cu risc biologic. Materialele contaminate vor fi introduse în recipiente etanșe sau în pungi speciale care vor fi etichetate în mod clar drept deșuri medicale cu risc biologic și vor fi inactivate prin autoclavare.

2. Tratarea OMG-urilor după introducere

Toate flacoanele goale cu vaccin, acele și seringile trebuie să fie colectate în recipiente pentru deșuri cu risc biologic, după administrarea vaccinului fiecărui subiect. Păstrați recipientele secundare pentru reconcilierea vaccinului de către monitor

După reconciliere și analiza evidențelor, materialele de studiu utilizate și vaccinul de studiu neutilizat vor fi fie distruse în conformitate cu procedurile de eliminare a materialelor cu risc biologic descrise în protocolul studului clinic și a procedurilor standard de operare din cadrul centrelor investigationale.

3. (a) Tipul și cantitatea deșeurilor rezultate

Pe baza numărului total de imunizări cu ChAd155-hli-HBV planificate pentru toate cohortele de studiu, cantitatea totală de deșuri generate, mai precis cantitatea de material clinic neutilizat cu OMG care rămâne în flacoane, pentru toate centrele de studiu din toate țările, nu depășește $2,76 \times 10^{12}$ pv. Având în vedere că 14 pacienți sunt luați în considerare pentru includerea în studiul derulat în România, un maxim de $2,66 \times 10^{11}$ vp de material OMG va rămâne neutilizat. Celelalte deșuri generate includ materialul folosit pentru administrarea vaccinurilor (de ex. 110 ace, 110 seringi, 22 flacoane și 22 echipamente individuale de protecție).

(b) Tratarea deșeurilor

Deșeurile generate pe parcursul studiului vor fi distruse la centrul investigational, în conformitate cu procedurile standard de operare din cadrul acestora. (de ex., prin autoclavare, incinerare sau tratare cu soluție de hipoclorit de sodiu) de către personalul instruit în eliminarea deșeurilor cu risc biologic.

J. Informații privind planurile de intervenție în caz de urgență

1. Metodele și procedeele de controlare a diseminării OMG-ului (OMG-urilor) în caz de răspândire neprevăzută

În caz de contaminare, personalul de studiu va trimite o notificare Investigatorului Principal și altor persoane, conform cerințelor politicii instituționale. Notificarea va fi transmisă și autoritatilor competente.

Întregul personal va fi instruit de investigator în timpul întâlnirilor de monitorizare cu privire la procedurile pe care trebuie să le implementeze în caz de diseminare cauzată de deversări sau de alte accidente.

În cazul răspândirii OMG-ului, zona trebuie neutralizată cu metoda adecvată descrisă în procedurile standard de operare din cadrul centrului investigational și în manualul operațional cu proceduri de studiu, descrise în continuare:

Bancul utilizat pentru prepararea vaccinului injectabil sau pentru manipularea probelor trebuie decontaminat înainte și după utilizare cu dezinfectant în conformitate cu recomandările GSK de fabricație suficient de activ împotriva OMG-urilor. Camera de spital sau clinică utilizată pentru administrarea vaccinului/prelevarea probelor (orice zonă care ar fi putut intra în contact cu vaccinul/proba) trebuie curățată cu dezinfectant adecvat imediat după administrare. În cazul vărsării vaccinului/probei, zona trebuie decontaminată cu o lavetă îmbibată cu etanol, de preferință 70%, cu un timp minim de contact de 1 min.

Decontaminarea materialului reutilizabil (de exemplu, containerul rezistent la scurgeri utilizat pentru transportul la fața locului al intervenției studiului) ar trebui să se efectueze, de preferință, prin autoclavare la 121 °C timp de 30 de minute (sub 15 lbs)

2. Metode de eliminare a OMG-ului (OMG-urilor) din zonele potențial afectate
În conformitatea cu secțiunea J.1.
3. Metode de eliminare sau igienizare a plantelor, animalelor, solurilor etc. potențial expuse în timpul sau după răspândire.
Nu este cazul.
4. Planuri de protecție a sănătății umane și a mediului în cazul apariției efectelor nedorite
În conformitate cu secțiunea J.1

Pacienții incluși în studiul clinic vor fi monitorizați conform instrucțiunilor protocolului, în conformitate cu standardele BPC. Evenimentele adverse vor fi înregistrate și raportate conform procedurilor detaliate în protocol.

Datorită procedurilor de control cuprinzătoare ce sunt implementate pentru transportul, depozitarea, administrarea, eliminarea și monitorizarea administrării OMG-ului, se consideră că riscul de răspândire accidentală în mediu sau orice efect nedorit asociat unei astfel de eliberări accidentale este foarte scăzut.

Referințe

Barnes, E., A. Folgori, S. Capone, L. Swadling, S. Aston, A. Kurioka, J. Meyer, R. Huddart, K. Smith, R. Townsend, A. Brown, R. Antrobus, V. Ammendola, M. Naddeo, G. O'Hara, C. Willberg, A. Harrison, F. Grazioli, M. L. Esposito, L. Siani, C. Traboni, Y. Oo, D. Adams, A. Hill, S. Colloca, A. Nicosia, R. Cortese and P. Klenerman (2012). "Novel adenovirus-based vaccines induce broad and sustained T cell responses to HCV in man." Sci Transl Med **4**(115): 115ra111.

Bhatnagar, P. K., E. Papas, H. E. Blum, D. R. Milich, D. Nitecki, M. J. Karels and G. N. Vyas (1982). "Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant." Proc Natl Acad Sci U S A **79**(14): 4400-4404.

Bertoletti, A. and A. J. Gehring (2013). "Immune therapeutic strategies in chronic hepatitis B virus infection: virus or inflammation control?" PLoS pathogens **9**(12): e1003784.

Biswas, S., M. D. Dicks, C. A. Long, E. J. Remarque, L. Siani, S. Colloca, M. G. Cottingham, A. A. Holder, S. C. Gilbert, A. V. Hill and S. J. Draper (2011). "Transgene optimization, immunogenicity and in vitro efficacy of viral vectored vaccines expressing two alleles of Plasmodium falciparum AMA1." PLoS One **6**(6): e20977.

Block, T. M., S. Locarnini, B. J. McMahon, B. Rehmann and M. G. Peters (2017). "Use of Current and New Endpoints in the Evaluation of Experimental Hepatitis B Therapeutics." Clin Infect Dis **64**(9): 1283-1288.

Boni, C., D. Laccabue, P. Lampertico, T. Giuberti, M. Viganò, S. Schivazappa, A. Alfieri, M. Pesci, G. B. Gaeta and G. Brancaccio (2012). "Restored function of HBV-specific T cells after long-term effective therapy with nucleos (t) ide analogues." Gastroenterology **143**(4): 963-973. e969.

Borghese, F. and F. I. Clanchy (2011). "CD74: an emerging opportunity as a therapeutic target in cancer and autoimmune disease." Expert Opin Ther Targets **15**(3): 237-251.

Capone, S., A. M. D'Alise, V. Ammendola, S. Colloca, R. Cortese, A. Nicosia and A. Folgori (2013). "Development of chimpanzee adenoviruses as vaccine vectors: challenges and successes emerging from clinical trials." Expert Rev Vaccines **12**(4): 379-393.

Capone, S., M. Naddeo, A. M. D'Alise, A. Abbate, F. Grazioli, A. Del Gaudio, M. Del Sorbo, M. L. Esposito, V. Ammendola and G. Perretta (2014). "Fusion of HCV Nonstructural Antigen to MHC Class II-associated Invariant Chain Enhances T-cell Responses Induced by Vectored Vaccines in Nonhuman Primates." Molecular Therapy **22**(5): 1039-1047.

Colloca, S., E. Barnes, A. Folgori, V. Ammendola, S. Capone, A. Cirillo, L. Siani, M. Naddeo, F. Grazioli, M. L. Esposito, M. Ambrosio, A. Sparacino, M. Bartiromo, A. Meola, K. Smith, A. Kurioka, G. A. O'Hara, K. J. Ewer, N. Anagnostou, C. Bliss, A. V. Hill, C. Traboni, P. Klenerman, R. Cortese and A. Nicosia (2012). "Vaccine vectors derived from a large collection of simian adenoviruses induce potent cellular immunity across multiple species." Sci Transl Med **4**(115): 115ra112.

Colloca, S. and A. Folgori (2013). "Generation and screening of a large collection of novel simian Adenovirus allows the identification of vaccine vectors inducing potent cellular immunity in humans." Sci Transl Med **4**(115): 115ra112.

de Barra, E., S. H. Hodgson, K. J. Ewer, C. M. Bliss, K. Hennigan, A. Collins, E. Berrie, A. M. Lawrie, S. C. Gilbert, A. Nicosia, S. J. McConkey and A. V. Hill (2014). "A phase Ia study to assess the safety and immunogenicity of new malaria vaccine candidates ChAd63 CS administered alone and with MVA CS." PLoS One **9**(12): e115161.

Esposito I., P. Cicconi, A.M. D'Alise, A. Brown, M. Esposito, L. Swadling, P.J. Holst, M.R. Bassi, M. Stornaiuolo, F. Mori, V. Vassilev, W. Li, T. Donnison, C. Gentile, B. Turner, A. von Delft, M. Del Sorbo, F. Barra, A.M. Contino, A. Abbate, E. Novellino, A.R. Thomsen, J.P. Christensen, A. Lahm, F. Grazioli, V. Ammendola, L. Siani, S. Colloca, P. Klenerman, A. Nicosia, L. Dorrell, A. Folgori, S. Capone, E. Barnes, and PEACHI Consortium (2020). "MHC class II invariant chain–adjuvanted viral vectored vaccines enhances T cell responses in humans." Sci Transl Med. **12**(548):eaaz7715.

Feuerbach, F. J. and R. G. Crystal (1996). "Progress in human gene therapy." Kidney Int **49**(6): 1791-1794.

Hodgson, S. H., K. J. Ewer, C. M. Bliss, N. J. Edwards, T. Rampling, N. A. Anagnostou, E. de Barra, T. Havelock, G. Bowyer, I. D. Poulton, S. de Cassan, R. Longley, J. J. Illingworth, A. D. Douglas, P. B. Mange, K. A. Collins, R. Roberts, S. Gerry, E. Berrie, S. Moyle, S. Colloca, R. Cortese, R. E. Sinden, S. C. Gilbert, P. Bejon, A. M. Lawrie, A. Nicosia, S. N. Faust and A. V. Hill (2015). "Evaluation of the efficacy of ChAd63-MVA vectored vaccines expressing circumsporozoite protein and ME-TRAP against controlled human malaria infection in malaria-naive individuals." J Infect Dis **211**(7): 1076-1086.

Ledgerwood, J. E., N. J. Sullivan and B. S. Graham (2015). "Chimpanzee Adenovirus Vector Ebola Vaccine--Preliminary Report." N Engl J Med **373**(8): 776.

Li, J., Y. Han, K. Jin, Y. Wan, S. Wang, B. Liu, Y. Liu, S. Lu and Z. Huang (2011). "Dynamic changes of cytotoxic T lymphocytes (CTLs), natural killer (NK) cells, and natural killer T (NKT) cells in patients with acute hepatitis B infection." Virology **8**: 199.

Liang, M., S. Ma, X. Hu, B. Zhou, J. Zhang, J. Chen, Z. Wang, J. Sun, X. Zhu, W. Abbott and J. Hou (2011). "Cellular immune responses in patients with hepatitis B surface antigen seroclearance induced by antiviral therapy." Virology **8**: 69.

Maini, M. K., C. Boni, C. K. Lee, J. R. Larrubia, S. Reignat, G. S. Ogg, A. S. King, J. Herberg, R. Gilson, A. Alisa, R. Williams, D. Vergani, N. V. Naoumov, C. Ferrari and A. Bertolotti (2000). "The role of virus-specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection." J Exp Med **191**(8): 1269-1280.

Michel, M.-L., M. Bourguine, H. Fontaine and S. Pol (2015). "Therapeutic vaccines in treating chronic hepatitis B: the end of the beginning or the beginning of the end?" Medical microbiology and immunology **204**(1): 121-129.

O'Hara, G. A., C. J. Duncan, K. J. Ewer, K. A. Collins, S. C. Elias, F. D. Halstead, A. L. Goodman, N. J. Edwards, A. Reyes-Sandoval, P. Bird, R. Rowland, S. H. Sheehy, I. D. Poulton, C. Hutchings,

S. Todryk, L. Andrews, A. Folgori, E. Berrie, S. Moyle, A. Nicosia, S. Colloca, R. Cortese, L. Siani, A. M. Lawrie, S. C. Gilbert and A. V. Hill (2012). "Clinical assessment of a recombinant simian adenovirus ChAd63: a potent new vaccine vector." *J Infect Dis* **205**(5): 772-781.

Othman, M., A. Labelle, I. Mazzetti, H. S. Elbatarny and D. Lillicrap (2007). "Adenovirus-induced thrombocytopenia: the role of von Willebrand factor and P-selectin in mediating accelerated platelet clearance." *Blood* **109**(7): 2832-2839.

Peruzzi, D., S. Dharmapuri, A. Cirillo, B. E. Bruni, A. Nicosia, R. Cortese, S. Colloca, G. Ciliberto, N. La Monica and L. Aurisicchio (2009). "A novel chimpanzee serotype-based adenoviral vector as delivery tool for cancer vaccines." *Vaccine* **27**(9): 1293-1300.

Phillips, S., S. Chokshi, A. Riva, A. Evans, R. Williams and N. V. Naoumov (2010). "CD8+ T cell control of hepatitis B virus replication: direct comparison between cytolytic and noncytolytic functions." *The journal of immunology* **184**(1): 287-295.

Ryu, C. J., P. Gripon, H. R. Park, S. S. Park, Y. K. Kim, C. Guguen-Guillouzo, O. J. Yoo and H. J. Hong (1997). "In vitro neutralization of hepatitis B virus by monoclonal antibodies against the viral surface antigen." *J Med Virol* **52**(2): 226-233.

Sheehy, S. H., C. J. Duncan, S. C. Elias, K. A. Collins, K. J. Ewer, A. J. Spencer, A. R. Williams, F. D. Halstead, S. E. Moretz, K. Miura, C. Epp, M. D. Dicks, I. D. Poulton, A. M. Lawrie, E. Berrie, S. Moyle, C. A. Long, S. Colloca, R. Cortese, S. C. Gilbert, A. Nicosia, A. V. Hill and S. J. Draper (2011). "Phase Ia clinical evaluation of the Plasmodium falciparum blood-stage antigen MSP1 in ChAd63 and MVA vaccine vectors." *Mol Ther* **19**(12): 2269-2276.

Sheets, R. L., J. Stein, R. T. Bailer, R. A. Koup, C. Andrews, M. Nason, B. He, E. Koo, H. Trotter and C. Duffy (2008). "Biodistribution and toxicological safety of adenovirus type 5 and type 35 vectored vaccines against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1), Ebola, or Marburg are similar despite differing adenovirus serotype vector, manufacturer's construct, or gene inserts." *Journal of immunotoxicology* **5**(3): 315-335.

Stanton, R. J., B. P. McSharry, M. Armstrong, P. Tomasec and G. W. Wilkinson (2008). "Re-engineering adenovirus vector systems to enable high-throughput analyses of gene function." *Biotechniques* **45**(6): 659-662, 664-658.

Stone, D., Y. Liu, D. Shayakhmetov, Z. Y. Li, S. Ni and A. Lieber (2007). "Adenovirus-platelet interaction in blood causes virus sequestration to the reticuloendothelial system of the liver." *J Virol* **81**(9): 4866-4871.

Swadling, L., S. Capone, R. D. Antrobus, A. Brown, R. Richardson, E. W. Newell, J. Halliday, C. Kelly, D. Bowen, J. Fergusson, A. Kurioka, V. Ammendola, M. Del Sorbo, F. Grazioli, M. L. Esposito, L. Siani, C. Traboni, A. Hill, S. Colloca, M. Davis, A. Nicosia, R. Cortese, A. Folgori, P. Klenerman and E. Barnes (2014). "A human vaccine strategy based on chimpanzee adenoviral and MVA vectors that primes, boosts, and sustains functional HCV-specific T cell memory." *Sci Transl Med* **6**(261): 261ra153.

Swadling, L., J. Halliday, C. Kelly, A. Brown, S. Capone, M. A. Ansari, D. Bonsall, R. Richardson, F. Hartnell, J. Collier, V. Ammendola, M. Del Sorbo, A. Von Delft, C. Traboni, A. V. Hill, S. Colloca, A. Nicosia, R. Cortese, P. Klenerman, A. Folgori and E. Barnes (2016). "Highly-

Immunogenic Virally-Vectored T-cell Vaccines Cannot Overcome Subversion of the T-cell Response by HCV during Chronic Infection." Vaccines (Basel) **4**(3).

Vandepapelière, P., G. K. Lau, G. Leroux-Roels, Y. Horsmans, E. Gane, T. Tawandee, M. I. bin Merican, K. M. Win, C. Treppe and G. Cooksley (2007). "Therapeutic vaccination of chronic hepatitis B patients with virus suppression by antiviral therapy: a randomized, controlled study of co-administration of HBsAg/AS02 candidate vaccine and lamivudine." Vaccine **25**(51): 8585-8597.

Vitelli, A., M. R. Quirion, C. Y. Lo, J. A. Mispion, A. K. Grabowska, A. Pierantoni, V. Ammendola, G. E. Price, M. R. Soboleski, R. Cortese, S. Colloca, A. Nicosia and S. L. Epstein (2013). "Vaccination to conserved influenza antigens in mice using a novel Simian adenovirus vector, PanAd3, derived from the bonobo *Pan paniscus*." PLoS One **8**(3): e55435.

Wevers, D., S. Metzger, F. Babweteera, M. Bieberbach, C. Boesch, K. Cameron, E. Couacy-Hymann, M. Cranfield, M. Gray, L. A. Harris, J. Head, K. Jeffery, S. Knauf, F. Lankester, S. A. Leendertz, E. Lonsdorf, L. Mugisha, A. Nitsche, P. Reed, M. Robbins, D. A. Travis, Z. Zommers, F. H. Leendertz and B. Ehlers (2011). "Novel adenoviruses in wild primates: a high level of genetic diversity and evidence of zoonotic transmissions." J Virol **85**(20): 10774-10784.

Wold, W. S. and K. Toth (2013). "Adenovirus vectors for gene therapy, vaccination and cancer gene therapy." Curr Gene Ther **13**(6): 421-433.

Zent, O., C. Arras-Reiter, M. Broecker and R. Hennig (2002). "Immediate allergic reactions after vaccinations--a post-marketing surveillance review." Eur J Pediatr **161**(1): 21-25.



MVA-HBV

PARTEA 1 (DECIZIA CONSILIULUI 2002/813/CE)

FORMULAR DE REZUMAT AL NOTIFICĂRII PRIVIND INTRODUCEREA DELIBERATĂ ÎN MEDIU A ORGANISMELOR MODIFICATE GENETIC, ALTELE DECÂT PLANTELE SUPERIOARE, ÎN CONFORMITATE CU ARTICOLUL 11 DIN DIRECTIVA 2001/18/CE

**Notificatorul: PPD România SRL, part of Thermo Fisher Scientific
in numele sponsorului**

**GlaxoSmithKline Biologicals SA (GSK)
Rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, Belgium**

Numărul EudraCT: 2021-003567-10

Versiunea 2.0 - iulie 2022

Cuprins

Cuprins.....	2
Tabel cu abrevieri	3
A. Informații generale.....	4
B. Informații privind organismul receptor sau parental din care s-a obținut OMG-ul.....	8
C. Informații privind modificarea genetică	12
D. Informații privind organismul (organismele) din care s-a obținut insertul.....	15
E. Informații privind organismul modificat genetic	17
F. Informații privind introducerea în mediu	18
G. Interacțiunile OMG-ului cu mediul și impactul potențial asupra mediului, în cazul în care sunt foarte diferite de cele ale organismului receptor sau parental	21
H. Informații privind monitorizarea.....	23
I. Informații post-introducere și privind tratarea deșeurilor.....	24
J. Informații privind planurile de intervenție în caz de urgență	25
Referințe.....	26

Tabel cu abrevieri

ADN	Acid dezoxiribonucleic
AN	Analogi nucleoz(t)idici
AS01B-4	Sistem adjuvant 01B-4
BPF	Bune practici de fabricație
BPL	Bune practici de laborator
BSL	Nivel de biosiguranță
CEE	Comunitatea Economică Europeană
ChAd155	Adenovirus de cimpanzeu vector 155
CVA	Virusul chorioallantois vaccinia Ankara
FEP	Fibroblast de embrion de pui
FMDV	Virusul febrei aftoase
FTIH	Care vizează prima expunere umană
GSK	GlaxoSmithKline
HBC	Hepatită B cronică
HBc/Ag HBc	Hepatita B core/antigenul core al proteinei nucleocapsidice
HBs/Ag HBs	Antigenul de suprafață al hepatitei B/antigen de suprafață
HBV	Virusul hepatitei B
HCV	Hepatită C
hIi	Complexul major uman de histocompatibilitate,clasa II asociat lanțului invariant , p35 izoform; CD74
IT-HBC	Imunoterapie țintită pentru hepatita B cronică
MVA	Virusul Vaccinia Ankara modificat
MVS	Tulpina matcă a virusului
OAS	Oligonucleotide antisens
OMG	Organism modificat genetic
PCR	Reacție de polimerizare în lanț
UE	Uniunea Europeană
ufp	Unitate formatoare de plăci
VV	Virusul Vaccinia

A. Informații generale

1. Precizări privind notificarea

- | | | |
|-----|---|------------|
| (a) | Statul membru la care se referă notificarea | ROMANIA |
| (b) | Numărul notificării | B/RO/22/01 |
| (c) | Data confirmării de primire a notificării | 16.09.2022 |
| (d) | Denumirea proiectului | |

Introducerea în mediu a OMG-ului va avea loc în timpul unui studiu clinic intitulat:

„Un studiu de fază 2, în regim simplu-orb, randomizat, controlat, multinațional, pentru evaluarea siguranței, reactogenității, eficacității și răspunsului imunitar în urma tratamentului secvențial cu o oligonucleotidă antisens (OAS) împotriva hepatitei B cronice (HBC), urmat de imunoterapie țintită pentru hepatita B cronică (IT-HBC) la pacienții cu HBC cărora li se administrează terapie cu analogi nucleoz(t)idici (AN).”

Numărul EudraCT al studiului este: 2021-003567-10, iar codul solicitantului pentru studiu este: 217023 (titlu abreviat: TH HBV ASO-001.)

- (e) Perioada propusă pentru introducerea în mediu
1 Sep 2022 -30 Sep 2025

Faza de tratament a studiului clinic TH HBV ASO-001 va avea o durată de 9-12 luni, cu începere în T1 2022. Împreună cu perioada de urmărire de siguranță, durata totală a studiului pentru fiecare participant este de aproximativ 3 ani, studiul urmând să fie încheiat în T2 2025. Durata totală a studiului va fi de aproximativ 4 ani.

2. Notificator: PPD România SRL, part of Thermo Fisher Scientific în numele Sponsorului
GlaxoSmithKline Biologicals SA (GSK)
Rue de l'Institut 89
1330 Rixensart, Belgium

Denumirea instituției sau a societății:

PPD România SRL, part of Thermo Fisher Scientific
Bld. Preciziei 24, West Gate Business Centre, clădirea H5, etaj 2, cod poștal: 062204,
București, România

3. Caracterizarea OMG-ului

Numele OMG-ului este: MVA-HBV.

Mai jos este prezentat nomenclatorul propus pentru termenii utilizați în acest document:

- Organismul donator: organismul(ele) din care sunt derivate secvențele codificate de OMG.
- Organismul receptor: vectorul „gol” obținut (adică fără transgenă)
- Organismul parental: organismul din care este derivat vectorul obținut.

- (a) Precizați dacă OMG-ul este un:

viroid	(.)
virus cu ARN	(.)
virus cu ADN	(X)
bacterie	(.)

fung	(.)
animal	
- mamifer	(.)
- insectă	(.)
- pește	(.)
- alt animal	(.)

precizați filumul, clasa ...

- (b) Identitatea OMG-ului (genul și specia): virus Vaccinia Ankara modificat (MVA)
Genul: Orthopoxvirus
Specia: virus Vaccinia

OMG-ul este un vector de virus Vaccinia Ankara modificat (MVA) care codifică secvențe fuzionate derivate din doi antigeni proteici ai virusului hepatitei B (VHB). Cele două proteine VHB sunt antigenul trunchiat core al proteinei nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase. Regiunea 2A permite procesarea transcriptului HBc-2A-HBs în expresia celor doi antigeni proteici HBc și HBs separați.

MVA este o tulpină puternic atenuată de virus vaccinia, dezvoltată prin transferul repetat (> 570 transferuri) al virusului chorioallantois vaccinia Ankara (CVA) în cultura celulară primară de fibroblaste ale embrionului de pui (Mayr et al. 1978). Tulpina MVA rezultată a fost utilizată în timpul campaniei de eradicare a variolei pentru vaccinarea a peste 120.000 de persoane cu risc crescut de evenimente adverse la vaccinul vaccinia (Stickl et al. 1974). Virusul vaccinia poate avea un ansamblu cuprinzător de gazde, se reproduce eficient în celulele umane și a provocat infecții cu virusul vaccinia dobândite în laborator (Isaacs et al. 2012). Spre deosebire de acesta, MVA are un ansamblu restrâns de gazde și nu se poate reproduce în celulele umane. Din aceste motive, virusul vaccinia face parte din grupa de risc 2 pentru agenți biologici, iar tulpina MVA face parte din grupa de risc 1 (Stellberger et al. 2014).

- (c) Stabilitate genetică – în conformitate cu Anexa IIIa, II, A(10)
O problemă de o importanță deosebită este stabilitatea genetică a preparatului viral și potențialul de recombinare și reconversie.

MVA este o tulpină a virusului vaccinia stabilă din punct de vedere genetic, care nu integrează ADN-ul său viral în genomul celulei-gazdă, deoarece virusul este localizat în citoplasma celulară. În ceea ce privește stabilitatea genetică, MVA este un virus cu ADN cu două catene și, ca toate ortopoxvirusurile, codifică propria polimerază ADN care are un rol de corectare, ceea ce conduce de obicei la rate scăzute ale mutațiilor de la un transfer la altul.

Stabilitatea genetică a OMG-ului din MVA-HBV a fost evaluată și demonstrată prin teste analitice efectuate pe parcursul procesului de dezvoltare, începând cu tulpina primară a virusului, tulpina-mată a virusului (MVS) și în diferite stadii ale procesului de fabricație a materialului clinic. Toate etapele de fabricație a vaccinului MVA-HBV recombinant au fost desfășurate cu implementarea bunelor practici de fabricație (BPF) actuale, pe baza unui sistem cu lot de sămânță. Loturile clinice de vaccin MVA-HBV sunt produse dintr-un lot de MVS pentru MVA-HBV fabricat în conformitate cu BPF.

Stabilitatea genetică a OMG-ului din MVA-HBV este confirmată în diferite etape prin evaluarea identității, purității, potenței și prin testarea aprofundată a siguranței. Printre

măsurile analitice se numără determinarea titrului infecțios în cultura celulară primară permisivă, secvențierea ADN-ului transgenei, analiza restricțiilor, testarea identității și purității prin amplificarea PCR a secvențelor-țintă specificate și expresia transgenei prin analiza Western blot.

Stabilitatea pe termen lung a materialului inițial MVS pentru MVA-HBV și a vaccinului cu OMG, atunci când sunt depozitate în stare congelată la temperaturi $\leq -60^{\circ}\text{C}$ va fi urmărită în conformitate cu planurile de stabilitate predefinite până la 48 de luni, respectiv 96 de luni. Datele cu privire la stabilitate sunt disponibile în urma stocării timp de 48 de luni, care indică faptul că nu s-a produs nicio modificare a stabilității materialului inițial MVS. Datele cu privire la stabilitatea pe termen lung a vaccinului cu OMG au fost obținute pentru o perioadă de până la 60 de luni, în condiții de stocare la temperaturi $< -60^{\circ}\text{C}$, ceea ce indică faptul că materialul îndeplinește specificațiile de stabilitate ale produsului pentru toată această perioadă.

Pe scurt, prin testarea efectuată în diferite etape ale procesului de producție s-a asigurat verificarea fenotipică și genotipică a stabilității genetice a materialului OMG al MVA-HBV, în raport cu standardele de referință.

4. Introducerea în mediu a aceluiași OMG este prevăzută și în alte state din Comunitate (în conformitate cu articolul 6 alineatul (1)), de către același notificator?

Da Nu

Dacă da, precizați codul (codurile) țării BE, BG, DE, ES, FR IT, PL

5. Același OMG a făcut obiectul unei notificări de introducere în mediu de către același notificator în alt stat din Comunitate?

Da Nu

Dacă da:

- Statul membru la care se referă notificarea BE, BG, DE, ES, FR, IT, PL
- Numărul notificării B/BE/21/BVW6
26-00-160/25Jan2022
B/ES/21/06

Vă rugăm să utilizați următoarele coduri ale țărilor:

Austria AT; Belgia BE; Germania DE; Danemarca DK; Spania ES; Finlanda FI; Franța FR; Grecia GR; Irlanda IE; Islanda IS; Italia IT; Luxemburg LU; Olanda NL; Norvegia NO; Portugalia PT; Suedia SE

6. Același OMG a făcut obiectul unei notificări de introducere în mediu sau de introducere pe piață în afara Comunității, de către același notificator sau de un altul?

Da Nu

Dacă da:

- Statul membru la care se referă notificarea Hong Kong, Philippines, Singapore, Taiwan, Turkey, Thailanda, Regatul Unit
- Numărul notificării N/A

7. Concluzii privind impactul potențial asupra mediului al introducerii în mediu de OMG-uri. Nu se preconizează că introducerea deliberată a MVA-HBV în cadrul acestui studiu clinic va afecta alte persoane, flora sau fauna aflată în apropierea zonei de introducere sau la distanță de aceasta. Probabilitatea ca vectorul MVA-HBV să devină persistent și invaziv în mediu în urma introducerii deliberate în cadrul acestui studiu clinic este neglijabilă, limitând astfel orice impact potențial asupra mediului. Raționamentul de mai sus este sprijinit de următoarele:

Posibilitatea transferului de gene de la vectorul MVA-HBV la alte specii este minimă, în condițiile introducerii propuse. Există un potențial pericolligat de orice OMG, ca urmare a evenimentelor de recombinare între OMG și omologii naturali ai acestuia, în acest caz virusul ortopox, care ar putea conduce fie la transferul transgenei (insertul) către virusuri cu competență de replicare, fie la revenirea la virulența vectorului OMG. Cu toate acestea, în cazul MVA, având în vedere că virusul vaccinia de tip sălbatic și MVA parental nu există în mod natural în mediu, probabilitatea colocalizării este neglijabilă, inclusiv posibilitatea de producere a unor situații de recombinare. Chiar dacă s-ar produce colocalizarea cu un alt ortopoxvirus, vectorul MVA a pierdut aproximativ 15% din genomul parental în urma procesului de atenuare, în ale cărui culturi s-au inclus mai mult de 500 de transferuri. Nu există niciun poxvirus cunoscut care să poată completa MVA pentru generarea unui virus cu competență de replicare și nu s-a documentat nicio reversie spontană a MVA la virusul vaccinia cu competență de replicare. MVA este un virus neintegrativ, deoarece se găsește exclusiv în citoplasma celulelor infectate, eliminându-se astfel orice risc de integrare a ADN-ului în genomul gazdei. MVA nu poate produce particule de vector în celulele umane și prin urmare nu poate conduce la o infecție care să se răspândească. Mai mult, studiile de biodistribuție cu vectori MVA similari care conțineau transgene diferite au demonstrat că aceștia sunt rareori detectați în afara locului injecției, ceea ce demonstrează că vectorul MVA nu se răspândește (Verheust et al. 2012). De asemenea, procesul amplu de atenuare a avut drept rezultat și un ansamblu restricționat de gazde pentru MVA, lipsa virulenței la animale și o replicare extrem de atenuată.

Mai mult, potențialul de excreție virală a particulelor infecțioase de MVA-HBV în mediu este limitată de lipsa excreției virale observate la subiecții vaccinați cu vectori MVA (Verheust et al. 2012).

Măsurile de prevenție implementate în timpul desfășurării studiului clinic vor minimiza diseminarea accidentală, cauzată de scurgeri sau accidente. Poxvirusurile sunt inactivate rapid de o serie de detergenți. Există, de asemenea, un risc minim de persistență a vectorului MVA în mediul înconjurător din cauza pierderii viabilității și a degradării la temperatură ambiantă.

S-a efectuat un studiu de toxicitate cu doză unică, în conformitate cu BPL, privind toleranța locală la iepuri neozeelandezi albi, cu componenta MVA-HBV a vaccinului candidat administrat concomitent cu HBc-HBs/AS01_{B-4} sau cu o altă componentă a vaccinului candidat, ChAd155-hIi-HBV, administrat concomitent cu HBc-HBs/AS01_{B-4}, prin injecție intramusculară. Componentele testate au fost bine tolerate la nivel local, fără să existe semne de toxicitate sistemică. Semnele observate la examinarea la microscop (inflamație și degenerarea/necroza miofibrilelor) pot fi atribuite în principal MVA-HBV. S-a efectuat un studiu de toxicitate cu doze repetate, în conformitate cu BPL, pentru a se investiga toleranța locală și toxicitatea sistemică a diferitelor scheme de pre-imunizare/rapel (prime-boost) cu HBc-HBs/AS01_{B-4}, ChAd155-hIi-HBV și MVA-HBV, administrate pe cale intramusculară la iepuri neozeelandezi albi (masculi și femele). Tratamentele au fost administrate secvențial sau concomitent, la intervale de 2 săptămâni. Nu s-au raportat informații privind mortalitatea în timpul perioadei principale a studiului și în perioada de recuperare. Toate schemele de vaccinare au fost bine tolerate din punct de vedere clinic, toate constatările perioadei in vivo au fost în concordanță cu reacția inflamatorie care poate apărea după administrarea vaccinurilor.

Vectorii virali MVA au fost utilizați pe scară largă în studii clinice, atât prin administrare directă, cât și în cadrul unor strategii pe bază de terapii celulare. Deși nu există date cu privire

la impactul vectorului MVA-HBV asupra mediului, nu există un fundament științific pentru a suspecta că prezența transgenei VHB în vectorul viral MVA îi va modifica caracteristicile de distribuție, de excreție sau capacitatea de replicare comparativ cu alte inserții utilizate în aceeași structură fundamentală a vectorului MVA.

Pe scurt, date fiind condițiile acestei introduceri, nu preconizăm că vectorul MVA se va răspândi în mediu, că va supraviețui în acesta sau că va avea vreun impact negativ asupra acestuia.

B. Informații privind organismul receptor sau parental din care s-a obținut OMG-ul

1. Caracterizarea organismului receptor sau parental:

Organismul parental pentru OMG este virusul Vaccinia Ankara modificat (MVA)

(a) Precizați dacă organismul receptor sau parental este:

(selecționați un singur răspuns)

viroid (.)

virus cu ARN (.)

virus cu ADN (X)

bacterie (.)

fung (.)

animal

- mamifer (.)

- insectă (.)

- pește (.)

- alt animal (.)

(precizați filumul, clasa) ...

alta, precizați ...

2. Denumire

(i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) Poxviridae/Chordopoxviridae

(ii) gen Orthopoxvirus

(iii) specie Vaccinia Virus

(iv) subspecie ...

(v) sușă Virusul Vaccinia Ankara modificat

(vi) patovar (biotip, ecotip, rasă etc.) ...

(vii) denumire comună MVA

3. Distribuția geografică a organismului

(a) Autohton sau stabilit în țara în care se face notificarea:

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

(b) Autohton sau stabilit în alte țări ale CE:

(i) Da (.) Nu (X)

Dacă da, precizați tipul de ecosistem în care se găsește:

Atlantic ...

Mediterranean ...

Boreal ...

Alpin ...

Continental ...

Macaronezian ...

- (ii) Nu (X)
(iii) Nu se știe (.)

Organismul parental (MVA) nu se găsește în mod natural în mediul înconjurător.

- (c) Este utilizat frecvent în țara în care se face notificarea?
Da (.) Nu (X)
- (d) Este păstrat frecvent în țara în care se face notificarea?
Da (.) Nu (X)

4. Habitatul natural al organismului

- (a) Dacă organismul este un microorganism
- | | |
|---|------------------------------|
| apă | <input type="checkbox"/> (.) |
| sol, stare liberă | <input type="checkbox"/> (.) |
| sol, în simbioză cu sistemul radicular al unei plante | <input type="checkbox"/> (.) |
| în simbioză cu frunzele sau cu sistemul peduncular al unei plante | <input type="checkbox"/> (.) |
| alta, precizați ... | |

Organismul parental MVA este un virus vaccinia recombinant, atenuat semnificativ, cu replicare deficientă. Se cunoaște faptul că MVA se reproduce bine în fibroblastele embrionului de pui și în celulele de pui de hamster, dar capacitatea de reproducere a acestuia este slabă în majoritatea celulelor de mamifere și nu se poate răspândi în celulele umane normale. MVA parental este găsit numai în mediu de laborator, nu și în ecosistemele naturale.

- (b) Dacă organismul este un animal: habitatul natural sau ecosistemul agricol natural:
Nu este cazul

5. (a) Tehnici de detecție

S-au dezvoltat teste bazate pe PCR care pot realiza o diferențiere între virusurile vaccinia patogene umane și tulpinile atenuate de MVA. Pentru a diferența MVA de alte tulpini de vaccinia, aceste teste se bazează pe faptul că MVA a pierdut aproximativ 15% din genomul său, comparativ cu alte virusuri vaccinia cu șase regiuni de deleție majore descrise (Del-I, -II, -III, -IV, -V și -VI).

- (b) Tehnici de identificare

Conform descrierii de la punctul B.5.a de mai sus

6. Organismul receptor a făcut obiectul unei clasificări în conformitate cu normele comunitare existente privind protecția sănătății umane și/sau a mediului?

Da (X) Nu (.)

Dacă da, precizați

Virusul vaccinia (VV) uman este clasificat ca agent biologic din grupa 2 (BSL2) în conformitate cu clasificarea CEE pentru protecția lucrătorilor împotriva riscurilor legate de expunerea la agenți biologici (Directiva 2000/54/CE). Clasificarea BSL2 se aplică agenților care pot cauza boli la om și care pot reprezenta un pericol pentru lucrători, cu probabilitate scăzută de răspândire în comunitate și pentru care există de obicei metode profilactice sau tratamente eficiente.

Tulpina recombinantă de MVA nu este clasificată în directiva CEE, dar majoritatea autorităților competente consideră că MVA aparține grupei de pericol BSL1, deoarece este o tulpină de VV puternic atenuată, cu replicare deficientă în celulele umane, prezintă un ansamblu de gazde foarte limitat sub aspectul infecțiozității, nu este virulentă la animale și nu poate provoca boli la om (Goosens et al. 2013).

Nu au fost publicate rapoarte privind transmiterea MVA de la persoanele vaccinate la personalul medical. În plus, nu este necesară imunizarea de rutină împotriva vaccinia a personalului de laborator și a altor membri ai personalului medical care lucrează cu tulpini foarte atenuate de VV (inclusiv MVA).

7. Organismul receptor, viu sau neviu, este patogen sau dăunător în orice alt fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

Dacă da:

- (a) pentru care dintre organismele următoare:
- | | |
|---------|-----|
| oameni | (.) |
| animale | (.) |
| plante | (.) |
| altele | (.) |

- (b) furnizați informațiile relevante prevăzute în Anexa III A, punctul II. A alineatul (11) litera (d) din Directiva 2001/18/CE

MVA este caracterizată de un nivel semnificativ de restricție a celulelor gazdă, cu replicare virală eficientă observată numai în fibroblastele embrionului de pui (CEF) și în celulele renale de pui de hamster, cu replicare incompletă în celulele umane și în cele mai multe dintre celulele de proveniență de la alte mamifere testate. În celulele nepermissive nu se desfășoară niciun proces de producție de virioni care s-ar putea răspândi și infecta alte celule. MVA nu prezintă niciun risc de integrare în genomul gazdei sau de activare a provirusului latent, deoarece vectorul are un ciclu de propagare care are loc în întregime la nivelul citoplasmei. Studiile de biodistribuție efectuate cu MVA recombinantă au indicat o răspândire limitată a particulelor infecțioase în afara locului injecției, chiar și la animale imunocompromise (Hanke et al. 2005). MVA nu este un patogen animal, deoarece a fost administrat la mai multe specii de animale și s-a constatat că nu este virulent.

Răspunsul imunitar generat după infecția cu specia nativă de Vaccinia Virus protejează împotriva variolei (adică sub formă de vaccin împotriva variolei). Infecția indusă de vaccinul împotriva virusului vaccinia este ușoară și, de obicei, asimptomatică la persoanele sănătoase. Cu toate acestea, în timpul campaniilor de vaccinare cu virusul vaccinia împotriva variolei, probabilitatea apariției complicațiilor și reacțiilor adverse a fost mai ridicată la persoanele imunocompromise. Prin urmare, pentru a reduce probabilitatea apariției evenimentelor adverse în timpul vaccinării, s-a dezvoltat tulpina MVA atenuată. Tulpina MVA atenuată a fost utilizată în anii '70, la sfârșitul eforturilor de eradicare a variolei la nivel global, pentru a vaccina aproximativ 120.000 de persoane din Germania, care au fost considerate susceptibile de evenimente adverse la vaccinul împotriva virusului vaccinia. S-a constatat că MVA a fost sigur și bine tolerat, cele mai frecvente reacții adverse raportate fiind reacții locale, febră și simptome asemănătoare gripei (Verheust et al. 2012; Goossens et al. 2013).

reducându-se astfel probabilitatea prezenței particulelor virale la nivelul pielii, în apropierea locului injecției și posibila excreție virală pe această cale.

În studiile clinice la om efectuate cu constructe MVA similare, administrate pe cale intramusculară, nu s-a detectat excreția vectorilor în probele biologice recoltate de la subiecții de studiu (spută, salivă, urină, materii fecale) (Goossens et al. 2013). Nu există nicio indicație conform căreia transgena VHB ar putea modifica sau influența comportamentul de excreție virală al vectorilor MVA recombinanți.

- (b) Factori care afectează diseminarea
Diseminarea va avea loc în timpul unui studiu clinic efectuat în conformitate cu bunele practici clinice. Prin urmare, prin respectarea cu strictețe a măsurilor de siguranță care trebuie să fie adoptate în timpul manipulării, preparării și administrării OMG-ului în timpul studiului clinic, așa cum se specifică în protocolul clinic, se va putea controla în mod adecvat orice posibilă răspândire a OMG-ului.

11. Modificări genetice anterioare ale organismului receptor sau parental care au făcut deja obiectul unei notificări de introducere în mediu în țara în care se face notificarea (precizați numărul notificării)
N/A

C. Informații privind modificarea genetică

1. Tipul de modificare genetică

- | | | |
|-------|------------------------------|-----|
| (i) | inserție de material genetic | (X) |
| (ii) | deleție de material genetic | (.) |
| (iii) | substituție de bază | (.) |
| (iv) | fuziune celulară | (.) |
| (v) | altele, precizați | ... |

2. Rezultatul preconizat al modificării genetice

Scopul modificării genetice descrise mai jos este dezvoltarea unui vector MVA recombinant cu replicare deficientă care să fie capabil să exprime doi antigeni proteici esențiali ai VHB la pacienții cu infecție cronică cu VHB, pentru a activa un răspuns imunitar specific antigenului. Cele două proteine VHB sunt antigenul trunchiat core al proteinei nucleocapsidice (HBc) și antigenul de suprafață (HBs) cu expresie completă, separate de regiunea 2A cu autoclivare a virusului febrei aftoase, care permite procesarea fuziunii HBc-HBs în antigeni proteici separați.

Rezultatul vizat pentru OMG este ca acesta să devină o abordare terapeutică pentru pacienții care suferă de VHB cronică, care va induce un răspuns imunitar puternic la nivelul anticorpilor, al celulelor T CD4+ și CD8+ la antigenii HBc și HBs.

3. (a) S-a utilizat un vector la efectuarea modificării?

Da (X) Nu (.)
Dacă nu, treceți direct la întrebarea 5.

- (b) Dacă da, vectorul este integral sau parțial prezent în organismul modificat?

Da (X) Nu (.)
Dacă nu, treceți direct la întrebarea 5.

4. Dacă răspunsul la întrebarea 3(b) este da, precizați următoarele informații

- (a) Tipul vectorului
plasmidă (X)
bacteriofag (.)
virus (.)
cosmidă (.)
transpozon (.)
alta, precizați ...
- (b) Identitatea vectorului
Plasmidă de transfer care codifică transgena VHB.
- (c) Ansamblul de gazde ale vectorului
Escherichia coli
- (d) Prezența în vector a secvențelor care produc un fenotip selectabil sau identificabil
Da (X) Nu (.)
rezistența la antibiotice (X)
alta, precizați ...

Precizați care este gena rezistentă la antibiotice inserată

Vectorul plasmidei de transfer conține gena rezistenței la ampicilină. Cu toate acestea, această secvență de rezistență la ampicilină nu este prezentă în OMG.

- (e) Fragmente constitutive ale vectorului
Vectorul plasmidic conține secvențe de ADN care codifică antigenii transgenei VHB (proteine HBc și HBs separate de regiunea 2A).

Caseta transgenei este însoțită de două regiuni genomice MVA care permit inserția transgenei în MVA receptor prin recombinare omologă.

- (f) Metoda de introducere a vectorului în organismul receptor
(i) transformare (.)
(ii) electroporare (.)
(iii) macroinjectare (.)
(iv) microinjectare (.)
(v) infecție (.)
(vi) alta, precizați ... (X)

Recombinarea omologă între vectorul de transfer plasmidic și sistemul vectorului MVA s-a realizat în cultura primară de CEF.

5. Dacă răspunsul la întrebarea B.3(a) și (b) este nu, care a fost metoda utilizată la efectuarea modificării?

- (i) transformare (.)
(ii) microinjectare (.)
(iii) microîncapsulare (.)
(iv) macroinjectare (.)
(v) alta, precizați ...

6. Compoziția insertului,

(a) Compoziția insertului

Insertul conține gena VHB (care codifică antigenii HBc și HBs separați de regiunea 2A aflată sub controlul promotorului virusului vaccinia P7.5, pentru a stimula expresia transgenei. Regiunea 2A a virusului febrei aftoase (FMDV) permite procesarea proteinei de fuziune în antigeni HBc și HBs separați.

Clivarea proteazei mediată de regiunea 2A se produce la nivelul capătului C al 2A, chiar în fața ultimei proline a secvenței de aminoacizi. Prolina rămâne la nivelul capătului N al proteinei HBs, iar cei 23 de aminoacizi precedenți în raport cu locul clivării prolinei rămân la nivelul polipeptidei HBc-2A. La capătul N al regiunii 2A (18 aminoacizi) s-a adăugat un spațiator format din 6 aminoacizi; s-au raportat situații în care spațiatoarele de acest fel au crescut eficiența clivării mediate de 2A.

Expresia transgenei, după procesarea proteazei, are astfel drept rezultat generarea a două polipeptide separate: HBc-spacer-2A și HBs. Din rațiuni de concizie, polipeptida HBc-spacer-2A va fi denumită proteina HBc în întregul dosar.

(b) Originea fiecărei părți constitutive a insertului

Antigenii HBc și HBs sunt derivați din virusul hepatitei B. Promotorul P7.5 este derivat din virusul vaccinia. Regiunea 2A este derivată din virusul febrei aftoase.

S-au identificat cel puțin nouă genotipuri (de la A la I) ale VHB, cu diferențe de peste 8% la nivelul genomului. Într-un anumit genotip VHB s-au identificat mai multe subtipuri ale genotipului care diferă în proporție de 4-8%. Secvențele care codifică antigenii HBc și HBs sunt derivate din subtipul A2 al genotipului.

(c) Funcția prevăzută pentru fiecare parte componentă a insertului în OMG

Funcția prevăzută a insertului genic care exprimă antigenii HBc și HBs este provocarea unui răspuns imunitar specific antigenului (în special celulele T CD8+ și, într-o măsură mai mică, celulele T CD4+) pentru a inhiba AgHBs până la un nivel care să permită reconstituirea imunității funcționale împotriva VHB în hepatocitele infectate, având drept rezultat un control virologic susținut în perioada în care nu se administrează tratamentul.

Motivarea selecției antigenilor pentru vaccin:

Controlul eficient al infecției cu VHB, așa cum este observat după remisia infecției acute cu VHB, este asociat cu inducția și persistența celulelor T helper și citotoxice care țintesc diferite proteine VHB și producția de anticorpi ai învelișului anti-VHB (Bertoletti et al. 2013).

MVA-HBV include o transgenă care codifică atât proteinele HBc, cât și proteinele HBs. S-au identificat cel puțin nouă genotipuri (de la A la I) ale VHB, cu diferențe de peste 8% la nivelul genomului. Într-un anumit genotip VHB s-au identificat mai multe subtipuri ale genotipului care diferă în proporție de 4-8%. În vaccinul MVA-HBV, secvențele HBc și HBs sunt cele din tulpina adw2 a genotipului A.

Proteina core, hepatita B (HBc): HBc joacă un rol cheie în formarea nucleocapsidelor care împachetează genomul VHB în citoplasma celulelor infectate în timpul replicării virale. Secvența HBc este păstrată în mare măsură în genotipurile și subtipurile genotipului VHB. Răspunsul celulelor sistemului imunitar, specific antigenului core VHB (AgHBc) și, într-o

măsură mai mică, altor antigeni VHB, joacă un rol important în controlul și remisia VHB. S-a demonstrat că există o corelație între inducția celulelor T CD8+ care țintesc antigenul HBc (AgHBc) și, într-o măsură mai mică, antigenii de suprafață ai hepatitei B (HBs) și ai polimerazei hepatitei B, și clearance-ul infecțiilor acute și cronice (Li et al. 2011, Liang et al. 2011, Boni et al. 2012, Block et al. 2017).

Proteina de suprafață, hepatita B (HB): HBs este principalul antigen de suprafață care conține determinanții antigenici esențiali (care definesc genotipul), precum și unii dintre epitopii cheie ai celulelor B păstrați în genotipuri care sunt responsabili pentru inducerea răspunsurilor de neutralizare extinse (Bhatnagar et al. 1982, Ryu et al. 1997). Clearance-ul AgHBs, împreună cu apariția anticorpilor anti-HBs, reprezintă un marker al remisiei infecției cu hepatita B. S-a stabilit, în mare parte, eficacitatea anticorpilor Ag HBs (anti-HBs) în prevenirea infecției cu VHB. Deși secvența HBs este variabilă în genotipuri, HBs este deja inclusă în familia intens studiată a vaccinurilor profilactice comercializate de GSK pentru hepatita B (Engerix B™ [adulti și copii], Fendrix™, Twinrix™ [adulti și copii]/Ambirix™ și Infanrix hexa™), cu privire la care s-a demonstrat că asigură protecția împotriva hepatitei B, indiferent de genotipuri.

- (d) Localizarea insertului în organismul gazdă
- pe o plasmidă liberă (.)
 - integrat în cromozom (.)
 - alta, precizați integrate în genomul MVA

În urma cotransfecției cu sistemul vectorial MVA și cu vectorul bifuncțional plasmidic care conține transgena are loc integrarea situs-direcționată a transgenei în genomul MVA prin recombinare omologă.

- (e) Insertul conține părți al căror produs sau funcție nu este cunoscută?
- Da (.) Nu (X)
- Dacă da, precizați ...

D. Informații privind organismul (organismele) din care s-a obținut insertul

1. Precizați dacă este:

- viroid (.)
- Virus cu ARN (X) virusul febrei aftoase (FMDV)
- Virus cu ADN (X) virusul hepatitei B umane (VHB)
- bacterie (.)
- fung (.)
- animal
- mamifer (.)
- insectă (.)
- pește (.)
- alt animal (.)
- (precizați filumul, clasa) ...
- alta, precizați ...

2. Denumire completă

Pentru virusul hepatitei B umane:

- (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) ...
- (ii) denumirea familiei Hepadnaviridae
- (iii) gen Orthohepadnavirus

(iv)	specie	virusul hepatitei B umane (VHB)
(v)	subspecie	...
(vi)	sușă	...
(vii)	cultivar/linie genealogică	...
(viii)	patovar	...
(ix)	denumire comună	VHB

Pentru virusul febrei aftoase:

(i)	ordin și/sau taxon superior (pentru animale)	Picornavirales
(ii)	denumirea familiei	Picornaviridae
(iii)	gen	Aphthovirus
(iv)	specie	
(v)	subspecie	...
(vi)	sușă	...
(vii)	cultivar/linie genealogică	...
(viii)	patovar	...
(ix)	denumire comună	FMDV

3. Organismul, viu sau neviu, este patogen sau dăunător în orice alt fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da Nu Nu se știe

Dacă da, precizați următoarele:

(a) pentru care dintre organismele următoare:

oameni
animale
plante
altele ...

(b) secvențele donate au vreun rol în proprietățile patogene sau dăunătoare ale organismului

Da Nu Nu se știe

Dacă da, precizați informațiile relevante în conformitate cu Anexa III A, punctul II A, alineatul 11 litera (d):

4. Organismul donator este clasificat în conformitate cu normele comunitare existente privind protecția sănătății umane și a mediului, precum Directiva 90/679/CEE privind protecția lucrătorilor împotriva riscurilor care decurg din expunerea la agenții biologici la locul de muncă?

Da Nu

Dacă da, precizați

VHB a fost încadrat, ca și alte hepadnavirusuri, în Clasa 3 în conformitate cu Directiva 2000/54/CE, cu mențiunea că VHB prezintă un risc limitat de infecție a lucrătorilor, deoarece în mod normal acesta nu se transmite pe cale aeriană.

Familia Picornaviridae a fost încadrată în Clasa 2 în conformitate cu Directiva 2000/54/CE. FMDV nu a fost încadrată în mod specific în conformitate cu Directiva 2000/54/CE.

5. Organismul donator și organismul receptor schimbă material genetic în mod natural?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

E. Informații privind organismul modificat genetic

1. Trăsăturile genetice și caracteristicile fenotipice ale organismului receptor sau parental care au fost schimbate ca urmare a modificării genetice

(a) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al capacității de supraviețuire?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
Precizați ...

(b) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al modului și/sau al ratei de reproducere?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
Precizați ...

(b) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al diseminării?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
Precizați ...

(c) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al patogenității?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
Precizați ...

2. Stabilitatea genetică a organismului modificat genetic

[In conformitate cu secțiunea A.3.c.](#)

3. OMG-ul, viu sau neviu, este patogen sau dăunător în orice alt fel (inclusiv produsele sale extracelulare) și într-o măsură semnificativă?

Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)

(a) pentru care dintre următoarele organisme?

oameni (.)
animale (.)
plante (.)
altele ...

(b) precizați informațiile relevante prevăzute în Anexa III A, punctul II A, alineatul 11 litera (d) și punctul II C alineatul (2) punctul (i)

[Patogenitatea MVA-HBV recombinant nu diferă de MVA parental, deoarece nu se preconizează că transgena va fi periculoasă sau că va produce efecte adverse.](#)

[Conform majorității autorităților, constructele MVA recombinante utilizate în studii clinice se încadrează în clasificarea BSL1 a agenților biologici, din cauza patogenității limitate și a rezultatelor binecunoscute în materie de siguranță la om \(Goossens et al. 2013\).](#)

[Tulpina de MVA atenuată a fost dezvoltată și utilizată în timpul campaniei de eradicare a variolei pentru vaccinarea a 120.000 de persoane din Germania care prezentau riscuri legate de vaccinarea cu vaccinul vaccinia. Vaccinul cu MVA nu a cauzat reacții adverse](#)

grave în acest grup care prezenta riscuri și a fost asociat numai cu reacții locale minore la locul injectiei, febră și simptome asemănătoare gripei.

OMG-ul propus (MVA-HBV; formule de vaccin cu doze similare și mai mici) este evaluat în prezent într-un studiu care vizează prima expunere umană (numărul EudraCT: 2017-001452-55). Până la blocarea bazei de date, stabilită pentru data de 18 mai 2021 (perioada de urmărire de siguranță cu o durată de 64 până la 673 de zile de la prima imunizare pentru formulele cu doză mai mică administrate unui număr de 13 subiecți și de 15 până la 143 de zile de la prima imunizare pentru formulele cu doză similară administrate unui număr de 37 de subiecți), nu s-au raportat evenimente adverse de natura bolii hepatice sau hematologice semnificative, potențiale boli mediate de sistemul imunitar și evenimente adverse grave. De asemenea, nu s-au detectat semnale de siguranță în cadrul parametrilor clinici de laborator evaluați.

În ultimul rând, nu s-au observat efecte toxice în timpul studiilor de toxicitate cu doză unică și repetată desfășurate cu OMG în conformitate cu BPL.

4. Descrierea metodelor de identificare și detecție

(a) Tehnici utilizate la detecția OMG-ului în mediu

În contextul studiului clinic, nu există niciun plan de testare pentru identificarea prezenței OMG-ului în mediu.

Identitatea MVA poate fi confirmată prin PCR. Acest test se bazează pe prezența deleției II sau a deleției III la nivelul MVA; aceste deleții sunt specifice pentru tulpina MVA a virusului vaccinia.

(b) Tehnici utilizate la identificarea OMG-ului

Identitatea vectorului MVA-HBV recombinant este confirmată prin secvențierea ADN-ului transgenei. Identitatea OMG-ului este confirmată și prin PCR, în care primerii PCR specifici situsurilor trebuie să amplifice fragmentele de ADN de dimensiuni corespunzătoare pentru a confirma identitatea OMG-ului.

F. Informații privind introducerea în mediu

1. Scopul introducerii în mediu (inclusiv potențiale avantaje ecologice importante prevăzute)

Scopul introducerii în mediu este evaluarea siguranței, imunogenității și eficacității creșterii dozelor de vaccin candidat în cadrul unui studiu clinic de fază 2 la pacienți adulți care suferă de HBC, care prezintă un risc scăzut de exacerbare severă a hepatitei, care urmează un tratament cu analogi nucleoz(t)idici (AN). MVA-HBV a fost dezvoltat pentru a inhiba AgHBs până la un nivel care să permită reconstituirea imunității funcționale împotriva VHB la nivelul hepatocitelor infectate, având drept rezultat un control virologic susținut în perioada în care nu se administrează tratamentul. În studiu se vor înrola aproximativ 184 de pacienți, dintre care 138 vor primi componenta MVA-HBV a vaccinului candidat (sau OMG). În România sunt planificați spre înrolare 14 pacienți.

OMG-ul va fi introdus în mediu în timpul unui studiu clinic, la centrele de studiu identificate, sub supravegherea Investigatorilor principali, în cadrul unui studiu clinic internațional multicentric.

Introducerea efectivă presupune administrarea OMG-ului subiecților de studiu prin injecție intramusculară. Introducerea se va efectua în încăperile special desemnate pentru aceasta din

cadrul spitalului sau al clinicii. Introducerea va fi efectuată de personal calificat și instruit corespunzător. Personalul care manipulează produsul va primi instrucțiuni detaliate privind prevenirea contaminării cu vaccinul.

Nu se preconizează beneficii semnificative pentru mediu în urma introducerii OMG-ului în cursul acestui studiu clinic.

2. Situl introducerii este diferit de habitatul natural sau de ecosistemul în care organismul receptor sau parental este utilizat, păstrat sau găsit în mod normal?

Da (.) Nu (.)

Dacă da, precizați ...

Nu este cazul. OMG-ul și MVA parental nu se găsesc în mod natural în mediu.

3. Informații privind introducerea în mediu și zona înconjurătoare

- (a) Localizare geografică (regiune administrativă și, după caz, coordonatele geografice ale acesteia):

GMO-ul MVA-HBV va fi administrat în timpul studiului clinic propus în cadrul următoarelor centre din România

Centrul de studiu Adresa
România
Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca, Str. Iuliu Moldovan nr. 23, Cluj Napoca, jud. Cluj
Spitalul clinic de Boli Infecțioase și Pneumoftiziologie «Victor Babes», Str Calea București, nr 64, Craiova, jud. Dolj
Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie «Prof. Dr. Octavian Fodor», Str Croitorilor 19-21, Cluj Napoca, jud. Cluj

- (b) Dimensiunea sitului (m²): ... m²

(i) situl efectiv de introducere (m²): ... m²

Nu este necesar un sit de dimensiuni specifice pentru introducere. Introducerea în mediu a OMG-ului va avea loc într-o sală de examinare dintr-un spital sau dintr-o clinică de dimensiuni standard, din fiecare dintre instituțiile clinice indicate.

(ii) zona afectată de introducere (m²): ... m²

Nu se preconizează că introducerea în mediu va afecta o zonă de dimensiuni mai mari.

- (c) Proximitatea față de biotopurile sau zonele protejate recunoscute pe plan internațional (inclusiv rezervoare de apă potabilă) care ar putea fi afectate:

Nu este cazul, deoarece introducerea în mediu va avea loc în timpul unui studiu clinic desfășurat în spitale/clinici.

- (d) Flora și fauna, inclusiv culturile, șeptelul și speciile migratoare care ar putea interacționa cu OMG-ul

Nu este cazul, deoarece introducerea în mediu va avea loc în timpul unui studiu clinic desfășurat în spitale/clinici.

4. Metoda de introducere și amploarea acesteia

- (a) Cantitățile de OMG-uri care urmează să fie introduse:

În ceea ce privește introducerea totală a OMG-ului, dacă luăm în considerare numărul de subiecți din cohorta de tratament cu MVA-HBV, doza administrată și numărul de injecții per subiect, cantitatea estimată de OMG care va fi introdusă în toate centrele de studiu clinic, în toate țările studiului, este echivalentă cu $2,76 \times 10^{10}$ pv. Având în vedere că 14 pacienți sunt luați în considerare pentru includerea în studiul derulat în România, se preconizează eliberarea a maximum $2,8 \times 10^9$ pv de OMG.

(b) Durata operațiunii:

Perioada de introducerea în mediu a OMG-ului MVA-HBV include perioada care începe cu primul pacient și prima imunizare și care se încheie cu imunizarea ultimului pacient. Deși durata exactă a introducerii va depinde de procesul de recrutare în studiu, se estimează că studiul planificat va dura aproximativ 40 de luni.

(c) Metode și proceduri de evitare și/sau de minimalizare a propagării OMG-urilor în afara sitului de introducere

Introducerea OMG-ului se va efectua exclusiv în scop clinic, în conformitate cu prevederile protocolului clinic. Produsul va fi preparat în conformitate cu condițiile aplicabile preparării medicamentelor injectabile. Cantitatea de OMG furnizată centrului în orice moment este limitată la cantitatea necesară pentru administrarea la pacienți și accesul la produs este permis numai personalului autorizat. Călea de administrare va reduce la minimum orice potențiale excreții virale de la pacient.

OMG-ul trebuie să fie furnizat centrelor de studiu în flacoane sigilate, etichetate și ambalate corespunzător. Manipularea și administrarea produsului trebuie să fie efectuate de personal instruit, sub supravegherea Investigatorului, în conformitate cu un protocol clinic și respectând regulile specificate în Bunele practici clinice.

Toate flacoanele, acele și seringile goale de vaccin împotriva OMG-urilor trebuie colectate în recipiente destinate deșeurilor cu risc biologic, după finalizarea pregătirii și administrării vaccinului pentru fiecare subiect. La reconciliere și gestionare materialele de studiu utilizate și vaccinurile de studiu neutilizate vor fi distruse în urma procedurilor instituției de eliminare a materialului cu risc biologic.

Zona utilizată pentru manipularea OMG-ului pentru injectare va fi decontaminată înainte și după manipulare, folosindu-se o soluție dezinfectantă standard. Toate transferurile preparatului care conține OMG trebuie să fie efectuate folosind recipiente închise. În plus, personalul de studiu va fi instruit să respecte procedurile standard de operare din cadrul centrelor investigationale recomandate pentru manipularea medicamentului care conține OMG, prevăzute și în protocolul studiului clinic.

În caz de răspândire accidentală, pe suprafețele contaminate se vor aplica dezinfectanți adecvați. Materialele contaminate vor fi îndepărtate din încăperi și păstrate în recipiente etanșe sau în pungă speciale care vor fi etichetate în mod clar drept deșeuri medicale cu risc biologic.

5. Scurtă descriere a condițiilor climatice medii (vreme, temperatură etc.)

Nu este cazul. Toate administrările OMG-ului trebuie să fie efectuate în încăperi convenționale din spitale/clinici din cadrul instituțiilor clinice specificate.

6. Informații relevante privind, după caz, introducerile anterioare în mediu ale aceluiși OMG, în special din punctul de vedere al impactului potențial al introducerii asupra mediului și asupra sănătății umane.

Studiile clinice efectuate cu OMG-uri din MVA recombinante similare care conțin alte transgene (de ex. malarie, Ebola, HCV, HIV) nu au ridicat semne de întrebare legate de siguranță. Nu s-au raportat efecte adverse semnificative, iar OMG-ul pare să fie în general sigur și bine tolerat (Verheust et al. 2012; Goossens et al. 2013).

OMG-ul este administrat în cadrul unui studiu în curs care vizează prima expunere umană (număr EudraCT: 2017-001452-55). Datele de siguranță până la blocarea bazei de date, stabilită pentru data de 18 mai 2021, nu au indicat nicio problemă legată de siguranță.

G. Interacțiunile OMG-ului cu mediul și impactul potențial asupra mediului, în cazul în care sunt foarte diferite de cele ale organismului receptor sau parental

1. Denumirea organismelor-țintă (după caz)
- | | |
|--|----------------|
| (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) | ... |
| (ii) denumirea familiei (pentru plante) | ... |
| (iii) gen | <i>Homo</i> |
| (iv) specie | <i>sapiens</i> |
| (v) subspecie | ... |
| (vi) sușă | ... |
| (vii) cultivar/linie genealogică | ... |
| (viii) patovar | ... |
| (ix) denumire comună | Om |
2. Mecanismele anticipate și rezultatul interacțiunilor dintre OMG-urile introduse și organismul-țintă (după caz)
- OMG-ul MVA-HBV este un vaccin pe bază de vector viral recombinant care transportă antigenii VHB relevanți, cu privire la care se preconizează că va mobiliza atât răspunsul imun umoral, cât și răspunsul imun celular ale gazdei. În conformitate cu secțiunea C.6(c) pentru detalii suplimentare.
3. Orice alte interacțiuni potențial importante cu alte organisme din mediu
- Posibilitatea transferului de gene către alte specii este minimă în condițiile diseminării clinice propuse a OMG-ului. OMG-ul va fi administrat subiecților într-o sală de examinare standard a unui spital sau a unei clinici și nu se preconizează că vor exista interacțiuni cu alte organisme din mediu. Caracteristicile fenotipice ale MVA reprezintă un alt mecanism care, de asemenea, limitează orice probabilitate de transfer al genelor, prin aceea că acesta este caracterizat de o replicare deficientă, are un ansamblu de gazde foarte limitat și s-a demonstrat că nu este virulent la animale.
- Pentru ca genele virale codificate de OMG să se transfere în genomul altor specii de virusuri variolice, celulele sensibile la aceasta trebuie să fie infectate simultan cu virusul variolei și transmise de vector, lucru care este extrem de puțin probabil.
4. Este posibilă apariția unei selecții ulterioare introducerii, precum competitivitatea crescută sau o mai accentuată capacitate de proliferare a OMG-ului?
- Da (.) Nu (X) Nu se știe (.)
- Detaliați

MVA parental nu este endemic la populația umană. De asemenea, nu există motive care sprijină ideea conform căreia adăugarea transgenei *VHB* la OMG ar promova orice selecție ulterioară diseminării pentru o capacitate de proliferare mai accentuată.

5. Tipuri de ecosisteme în care OMG-ul se poate propaga din situl de introducere și în care se poate stabili

Dat fiind contextul introducerii propuse a OMG-ului, în care OMG-ul este administrat subiecților într-o sală de examinare închisă dintr-un spital sau dintr-o clinică, este puțin probabil ca OMG-ul să intre în contact cu orice organisme nevizate din ecosistem. În cazul administrării neintenționate la organisme nevizate, diseminarea ulterioară este puțin probabilă, deoarece MVA nu poate finaliza un ciclu de replicare virală, are un ansamblu foarte limitat de gazde, iar mai multe studii au demonstrat că nu este virulent la animale (animale cu sistem imunitar funcțional și animale imunocompromise), precum și în culturile celulare primare umane.

6. Denumirea completă a organismelor nevizate care (ținând seama de tipul mediului receptor) pot fi, deși neintenționat, afectate într-o măsură semnificativă de introducerea OMG-ului

- (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) ...
- (ii) denumirea familiei pentru plante ...
- (iii) gen ...
- (iv) specie ...
- (v) subspecie ...
- (vi) sușă ...
- (vii) cultivar/linie genealogică ...
- (viii) patovar ...
- (ix) denumire comună ...

Nu este cazul. Există posibilitatea ca personalul de studiu să fie injectat accidental cu OMG-ul (de exemplu, leziune cauzată de înțeparea cu acul). Deoarece administrarea vaccinului va fi efectuată de personal medical calificat și instruit corespunzător, probabilitatea ca această situație să apară și riscul inerent asociat acesteia sunt considerate minime.

7. Probabilitatea unui transfer genetic in vivo

- (a) de la OMG la alte organisme din ecosistemul afectat de introducerea în mediu:

Potențialul de transfer genetic către alte specii este minim, având în vedere condițiile de introducere a OMG-ului. OMG-ul va fi introdus într-o sală de examinare închisă dintr-un spital sau dintr-o clinică și este puțin probabil să intre în contact cu alte organisme din ecosistem. În plus, virusul MVA cu OMG va fi localizat în citoplasma celulară până la lizarea celulei infectate și, deoarece este caracterizat de o replicare deficientă, acesta nu poate genera particule infecțioase și nu se poate răspândi la celulele neinfectate. Aceste caracteristici limitează semnificativ potențialul transferului genetic de la OMG la alte organisme.

- (b) de la alte organisme la OMG:

Acest lucru este foarte puțin probabil din aceleași motive, descrise mai sus în Secțiunea G.7.a.

- (c) consecințe probabile ale transferului de gene:

Nu există date disponibile, dar deoarece produsul genic al VHB conceput exclusiv pentru inducerea unui răspuns imunitar celular specific antigenului VHB nu este

patogenic în sine, nu se preconizează că vor exista consecințe nedorite ale acestui eveniment puțin probabil.

8. Indicați rezultatele relevante (dacă există) ale studiilor cu privire la comportamentul și caracteristicile OMG-ului și la impactul său ecologic, realizate în medii naturale simulate (de exemplu, microcosmosuri etc.):
Nu există date disponibile.
9. Interacțiuni posibile, importante din punct de vedere ecologic, cu procesele biogeochimice (dacă sunt diferite față de organismul receptor sau parental)
Nu este cazul

H. Informații privind monitorizarea

1. Metode de monitorizare a OMG-urilor

Monitorizarea efectelor OMG-ului administrat asupra subiecților în perioada de introducere propusă se va efectua prin evaluări clinice (de exemplu, examen fizic, raportarea evenimentelor adverse), analize de biochimie sanguină și evaluări imunologice, conform descrierii din protocol.

Evaluarea siguranței pentru toți subiecții care participă la studiul clinic se va efectua pe durata introducerii propuse a OMG-ului și va continua timp de 24 de luni după ultima injecție.

În timpul desfășurării studiului clinic, monitorizarea OMG- va fi planificată de personalul responsabil de mediu sau de studiu care va specifica aria zonei care urmează să fie monitorizată. Monitorizarea include verificarea întregii documentații de la fața locului, pe baza unei "liste de verificare a responsabilului OMG", în timpul vizitelor de monitorizare. Aceasta verificare include documentația de certificare a centrului, existența numirii responsabilului local de biosecuritate, evidența instruirii corespunzătoare a personalului, evidența incidentelor raportate, a scurgerilor etc. Mai multe detalii privind monitorizarea sunt descrise în Manualul operational de proceduri de studiu (SPM) pus la dispoziția fiecărui centru.

2. Metode de monitorizare a efectelor asupra ecosistemului

Nu s-au dezvoltat metode suplimentare pentru monitorizarea efectelor OMG-ului asupra ecosistemelor.

Date fiind condițiile propuse pentru introducerea clinică a OMG-ului, excreția virală limitată observată la OMG-urile MVA și natura OMG-ului din MVA-HBV cu replicare deficientă, caracterizat de lipsa răspândirii, probabilitatea ca OMG-ul să interacționeze cu organismele nevizate din mediu este scăzută. Pe baza argumentelor de mai sus, nu s-a planificat monitorizarea ecosistemului pe durata studiului clinic propus.

3. Metode de detecție a transferului materialului genetic donat, de la OMG la alte organisme

Pe baza argumentelor prezentate în secțiunea H.2. și a probabilității neglijabile de transfer al materialului genetic donat către alte organisme, așa cum se descrie în secțiunea G.7, nu s-a planificat monitorizarea ecosistemului în timpul studiului clinic propus.

4. Suprafața zonei monitorizate (m²)

... m²

OMG-ul este administrat numai subiecților de studiu prin injecție intramusculară, în camere special desemnate pentru aceasta din cadrul fiecărui centru de studiu.

5. Durata monitorizării
În conformitate cu secțiunea H.1, evaluările de siguranță vor fi efectuate pe toată durata participării pacientului la studiul clinic și până la încheierea studiului.
6. Frecvența monitorizării
În conformitate cu graficul furnizat în protocolul studiului clinic, subiecții vor fi monitorizați periodic sub aspectul siguranței și al rezultatului clinic în timpul vizitelor planificate pe parcursul perioadei de introducere a OMG-ului și în timpul perioadei de urmărire programate după ultima imunizare. S-au programat douăzeci și cinci de vizite de monitorizare în cele 29 de săptămâni ale fazei de imunizare și în cele 92 de săptămâni de urmărire de siguranță.

I. Informații post-introducere și tratarea deșeurilor

1. Tratarea sitului după introducere
Camera (camerele) spitalului sau clinicii care au fost utilizate pentru manipularea și administrarea vaccinului cu OMG vor fi curățate cu un dezinfectant adecvat imediat după administrare, în conformitate cu procedurile standard de operare din cadrul centrelor investigationale .

În caz de răspândire sau contaminare accidentală, toate suprafețele contaminate trebuie să fie tratate în conformitate cu descrise în protocolul studului clinic și a procedurilor standard de operare din cadrul centrelor investigationale referitoare la produsele cu risc biologic. Materialele contaminate vor fi introduse în recipiente etanșe sau în pungi speciale care vor fi etichetate în mod clar drept deșeuri medicale cu risc biologic și vor fi inactivate prin autoclavare.

2. Tratarea OMG-urilor după introducere
Toate flacoanele goale cu vaccin, acele și seringile trebuie să fie colectate în recipiente pentru deșeuri cu risc biologic, după administrarea vaccinului fiecărui subiect. Păstrați recipientele secundare pentru reconcilierea vaccinului de către monitor

După reconciliere și analiza evidențelor, materialele de studiu utilizate și vccinul de studiu neutilizat vor fi fie distruse în conformitate cu procedurile de eliminare a materialelor cu risc biologic descrise în protocolul studului clinic și a procedurilor standard de operare din cadrul centrelor investigationale.

3. (a) Tipul și cantitatea deșeurilor rezultate
Pe baza numărului total de imunizări cu MVA-HBV planificate pentru toate cohortele de studiu, a cantității totale de deșeuri generate, cantitatea de material clinic neutilizat cu OMG care rămâne în flacoane, pentru toate centrele de studiu din toate țările, nu depășește 1,104 x 10¹⁰ ufp. Având în vedere că 14 pacienți sunt luați în considerare pentru a fi incluși în studiul derulat în România, un maxim de 1,12 x 10⁹ pv de material OMG va ramane nefolosit. Celelalte deșeuri generate includ materialul folosit pentru manipulare și administrarea vaccinurilor (de ex. 110 ace, 110 seringi, 22 flacoane și 22 echipamente individuale de protecție).
- (b) Tratarea deșeurilor

Deșeurile generate pe parcursul studiului vor fi distruse la centrul investigational, în conformitate cu procedurile standard de operare din cadrul acestora (de ex., prin autoclavare incinerare sau tratare cu soluție de hipoclorit de sodiu) de către personalul instruit în eliminarea deșeurilor cu risc biologic.

J. Informații privind planurile de intervenție în caz de urgență

1. Metodele și procedeele de controlare a diseminării OMG-ului (OMG-urilor) în caz de raspandire neprevăzută

În caz de eliberare accidentală (de exemplu, leziune cauzată de înțeparea cu acul sau spargerea flaconului și scurgere), personalul de studiu va trimite o notificare Investigatorului Principal și altor persoane, conform cerințelor politicii instituționale. O notificare se va trimite și către autoritățile competente.

Toți membrii personalului de studiu vor fi instruiți de investigator și în timpul întâlnirilor de monitorizare, cu privire la procedurile pe care trebuie să le implementeze în caz de diseminare accidentală.

În cazul raspandirii OMG-ului, zona trebuie neutralizată cu metoda adecvată descrisă în procedurile standard de operare din cadrul centrului investigational și în manualul operațional cu proceduri de studiu și descrisă în continuare.

Bancul utilizat pentru manipularea vaccinului injectabil sau pentru manipularea probelor trebuie decontaminat înainte și după utilizare cu dezinfectant în conformitate cu recomandările GSK de fabricație, suficient de activ împotriva OMG-urilor. Camera de spital sau clinică utilizată pentru administrarea vaccinului/prelevarea probelor (orice zonă care ar fi putut intra în contact cu vaccinul/proba) trebuie curățată cu dezinfectant adecvat imediat după administrare. În cazul vărsării vaccinului/probei, zona trebuie decontaminată cu o lavetă îmbibată cu etanol, de preferință 70%, cu un timp minim de contact de 1 min.

Decontaminarea materialului reutilizabil (de exemplu, containerul rezistent la scurgeri utilizat pentru transportul la fața locului al intervenției studiului) ar trebui să se efectueze, de preferință, prin autoclavare la 121 °C timp de 30 de minute (sub 15 lbs).

2. Metode de eliminare a OMG-ului (OMG-urilor) din zonele potențial afectate

În conformitate secțiunea J.1.

3. Metode de eliminare sau igienizare a plantelor, animalelor, solurilor etc. potențial expuse în timpul sau după raspandire

Nu este cazul

4. Planuri de protecție a sănătății umane și a mediului în cazul apariției efectelor nedorite

În conformitate cu secțiunea J.1.

Pacienții incluși în studiul clinic vor fi monitorizați conform instrucțiunilor protocolului, în conformitate cu standardele BPC. Evenimentele adverse vor fi înregistrate și raportate conform procedurilor detaliate în protocol.

Datorită procedurilor de control cuprinzătoare ce sunt implementate pentru transportul, depozitarea, administrarea, eliminarea și monitorizarea administrării OMG-ului, se consideră că riscul de eliberare accidentală în mediu sau orice efect nedorit asociat unei astfel de eliberări accidentale este foarte scăzut.

Referințe

- Bertoletti, A. and A. J. Gehring (2013). Immune therapeutic strategies in chronic hepatitis B virus infection: virus or inflammation control? PLoS pathogens **9**(12): e1003784.
- Bhatnagar, P. K., E. Papas, H. E. Blum, D. R. Milich, D. Nitecki, M. J. Karels and G. N. Vyas (1982). Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant. Proc Natl Acad Sci U S A **79**(14): 4400-4404.
- Block, T. M., S. Locarnini, B. J. McMahon, B. Rehermann and M. G. Peters (2017). Use of Current and New Endpoints in the Evaluation of Experimental Hepatitis B Therapeutics. Clin Infect Dis **64**(9): 1283-1288.
- Boni, C., D. Laccabue, P. Lampertico, T. Giuberti, M. Viganò, S. Schivazappa, A. Alfieri, M. Pesci, G. B. Gaeta and G. Brancaccio (2012). Restored function of HBV-specific T cells after long-term effective therapy with nucleos (t) ide analogues. Gastroenterology **143**(4): 963-973. e969.
- Goossens, M., K. Pauwels, N. Willemarck and D. Breyer (2013). Environmental risk assessment of clinical trials involving modified vaccinia virus Ankara (MVA)-based vectors. Curr Gene Ther **13**(6): 413-420.
- Hanke, T., A. McMichael, M. Dennis, S. Sharpe, L. Powell, L. McLoughlin, S. Crome (2005). Biodistribution and persistence of an MVA-vectored candidate HIV vaccine in SIV-infected rhesus macaques and SCID mice. Vaccine **23**:1507-1514.
- Isaacs, SN. Working safely with vaccinia virus: laboratory technique and review of published cases of accidental laboratory infections. In: Isaacs, SN, editor. Vaccinia virus and poxvirology. New York: Humana Press; 2012. p. 1-22.
- Li, J., Y. Han, K. Jin, Y. Wan, S. Wang, B. Liu, Y. Liu, S. Lu and Z. Huang (2011). Dynamic changes of cytotoxic T lymphocytes (CTLs), natural killer (NK) cells, and natural killer T (NKT) cells in patients with acute hepatitis B infection. Virology **8**: 199.
- Liang, M., S. Ma, X. Hu, B. Zhou, J. Zhang, J. Chen, Z. Wang, J. Sun, X. Zhu, W. Abbott and J. Hou (2011). Cellular immune responses in patients with hepatitis B surface antigen seroclearance induced by antiviral therapy. Virology **8**: 69.
- Mayr A, Stickl H, Muller HK, Danner K, Singer, H. [The smallpox vaccination strain MVA: marker, genetic structure, experience gained with the parenteral vaccination and behavior in organisms with a debilitated defense mechanism]. Zentralblatt fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene Erste Abteilung Originale Reihe B: Hygiene, Betriebshygiene, praventive Medizin. 1978;167:375-90.
- Ryu, C. J., P. Gripon, H. R. Park, S. S. Park, Y. K. Kim, C. Guguen-Guillouzo, O. J. Yoo and H. J. Hong (1997). In vitro neutralization of hepatitis B virus by monoclonal antibodies against the viral surface antigen. J Med Virol **52**(2): 226-233.
- Stellberger T, M Haase, P Guertler, I Stockmar, U Busch, A Baiker (2014) Characterization of Recombinant Vaccinia Viruses by MLPA Technology. Applied Biosafety **19**(3): 132-140.

Stickl H, Hochstein-Mintzel V, Mayr A, Huber HC, Schafer H, Holzner A. [MVA vaccination against smallpox: clinical tests with an attenuated live vaccinia virus strain (MVA) (author's translation)]. Deutsche Medizinische Wochenschrift. 1974;99:2386-92.

Verheust, C., M. Goossens, K. Pauwels and D. Breyer (2012). Biosafety aspects of modified vaccinia virus Ankara (MVA)-based vectors used for gene therapy or vaccination. Vaccine **30**(16): 2623-2632.