



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE *YERSINIA ENTEROCOLÍTICA* MODIFICADA GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/18)

Título del ensayo

Estudio de fase I/II y sin ocultación sobre T3P-Y058-739, una cepa modificada genéticamente de la bacteria *Yersinia enterocolitica*, en pacientes con tumores sólidos avanzados, del promotor T3 Pharmaceuticals AG.

Características del ensayo

Los pacientes recibirán T3P-Y058-739 por inyección i.t. directa o por perfusión i.v.

Los pacientes pasarán la noche ingresados tras la primera dosis para facilitar la supervisión y la toma de muestras, pero por lo demás, se les tratará como pacientes ambulatorios y se les permitirá irse a casa entre las administraciones de T3P-Y058-739.

Todos los pacientes recibirán un tratamiento antibiótico de cinco días que comenzará como máximo 14 días después de la última dosis de T3P-Y058-739 para eliminar las bacterias. El tratamiento con cotrimoxazol por vía oral es el antibiótico de primera elección. La doxiciclina es una alternativa adecuada, o la ceftriaxona, o la cefotaxima.

El seguimiento de la seguridad continuará para todos los pacientes hasta que se documente la eliminación completa de T3P-Y058-739 mediante el análisis de muestras consecutivas de sangre, orina, heces e hisopados de lesiones ulceradas (si las hubiera) tomadas a intervalos mensuales durante al menos tres meses.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario 12 de Octubre, el Hospital Universitario La Paz, el ICO l'Hospitalet - Hospital Duran i Reynals y el Hospital Universitari Vall d'Hebrón.

Organismo modificado genéticamente

Organismo receptor

Yersinia enterocolitica E40. Esta cepa se aisló a principios de los años 90 en Bélgica a partir de un paciente humano. Pertenece a una subespecie poco virulenta de *Yersinia enterocolitica*, denominada «*palaearctica*», que carece de la isla de patogenia elevada (IPE) que codifica el sideróforo yersiniabactina (Ybt) que facilita la adquisición de hierro. En consecuencia, todas las cepas de *Y. enterocolitica palaearctica* se caracterizan por una adquisición deficiente de hierro (los factores de virulencia de *Yersinia* están codificados tanto en el cromosoma como en diferentes plásmidos).

Las características fenotípicas y genotípicas son:

- Ausencia del sideróforo Ybt, lo que provoca una adquisición deficiente de hierro.
- Serotipo O:9, biogrupo 2.
- Contienen el plásmido de virulencia (pYV40) que codifica el sistema de secreción de tipo III (T3SS) y las proteínas efectoras.
- Resistencia natural a ampicilina, ácido nalidíxico y arsénico.



-Patogenicidad y virulencia de *Yersinia enterocolitica*

Y. enterocolitica es una enterobacteria. Se contagia por vía oral y es una causa frecuente de enfermedad gastrointestinal. Se encuentra en humanos, animales de sangre caliente (sobre todo en animales de granja y mascotas), aves y, en raras ocasiones, en reptiles, peces y crustáceos. El cerdo es el principal reservorio animal de *Y. enterocolitica* patógena y se considera que el consumo de carne de cerdo cruda o poco cocinada es la principal vía de transmisión de la *Y. enterocolitica* patógena al ser humano. Las especies no patógenas de *Yersinia* se encuentran en abundancia en muestras de alimentos y medioambientales, incluidas las heces humanas. Los cerdos son portadores de la bacteria en la cavidad bucal (lengua y amígdalas) y en los ganglios linfáticos, y se cree que el resto del animal en canal se contamina en el matadero. La capacidad de *Y. enterocolitica* para crecer a +4° C y multiplicarse en los productos derivados de la carne durante su conservación refrigerada aumenta el riesgo de transmisión a los seres humanos. Sin embargo, las fuentes de contaminación por *Yersinia* rara vez se identifican porque la mayoría de los casos son esporádicos y, por lo general, no se investiga la fuente de contaminación.

La supervivencia y la replicación de la *Y. enterocolitica* en los tejidos del hospedador es posible gracias a la inyección de seis proteínas de *Yersinia* (Yops) a través del sistema de secreción bacteriano de tipo 3 (T3SS). El T3SS Ysc codificado en el plásmido de virulencia pYV consta de cuatro componentes básicos: (i) el aparato de secreción tipo III formado por proteínas Ysc, (ii) las proteínas Yop efectoras, (iii) un conjunto de proteínas reguladoras que bloquean el T3SS en ausencia del estímulo adecuado; y (iv) un grupo de proteínas que ayudan a la translocación de las proteínas efectoras.

Las proteínas de *Yersinia* (Yop) son YopE, YopH, YopO, YopP y YopT. Cada uno de estos Yops tiene una actividad específica en la célula hospedadora. YopH, YopE, YopT y YopO alteran la dinámica citoesquelética y, por tanto, inhiben la fagocitosis por parte de los leucocitos polimorfonucleares y los macrófagos. La YopP induce la apoptosis de los macrófagos e inhibe la activación del «factor nuclear kappa B», es decir, el factor de transcripción nuclear de los linfocitos B activados (NFκB), inhibiendo así la liberación del factor de necrosis tumoral-α (TNF-α) y de la interleucina-8 (IL-8) por los macrófagos y las células epiteliales. YopM es una proteína de repetición rica en leucina que actúa como ligasa de ubiquitina. Se ha informado de que la eliminación de genes únicos de *Yersinia*, por ejemplo, YopH o YopM, reduce drásticamente la virulencia de la bacteria en modelos murinos.

Además de los seis Yops, el plásmido pYV también codifica una proteína trimérica de membrana externa en espiral (la adhesina de *Yersinia*, YadA) y el denominado antígeno V (compuesto por la proteína apical LcrV de respuesta a baja concentración de calcio del antígeno V). YadA tiene funciones de adhesión celular y de protección contra el complemento y las defensinas, y el antígeno V tiene actividad agonista del receptor tipo Toll 2 (TLR-2). Solo los anticuerpos que se unen al LcrV han demostrado tener efectos neutralizantes potenciales sobre la actividad del T3SS.

Además del plásmido pYV, *Yersinia enterocolitica* enteropatógena porta varios determinantes localizados cromosómicamente que sustentan la invasión intestinal y la virulencia tras la ingestión oral en ratones: el gen *invA*, que codifica una proteína de la membrana externa llamada invasina; el gen *ail*, que codifica la proteína Ail (fijación del locus de adhesión-invasión); y la IPE, que codifica el sistema de captación de hierro Ybt. La invasina media la penetración a través de la barrera mucosa de las placas de Peyer dirigiéndose a las células epiteliales membranosas (M) intestinales. Es esencial para la colonización y la persistencia de la *Y. enterocolitica* en su hospedador reservorio natural, el



cerdo. Ail es importante para la adhesión y la invasión de las células hospedadoras. En combinación con YadA garantiza un alto grado de resistencia sérica mediante la unión del factor H.

Transferencia de material genético

La transferencia horizontal de la IPE se ha descrito para ciertas cepas de *Y. pseudotuberculosis* y de *Y. pestis*, pero no para la *Y. enterocolitica*. Cabe destacar que la movilización de la IPE solo se observó en cultivos líquidos y a bajas temperaturas (4° C). La transferencia horizontal depende de la presencia de un plásmido endógeno portador de varios elementos genéticos móviles y de una maquinaria de conjugación. No existen informes que demuestren la presencia de tales sistemas de conjugación en la *Y. enterocolitica*.

Además de la IPE, se ha investigado la transferencia del plásmido de virulencia de *Yersinia* (pYV). Se descubrió que el propio pYV no es conjugativo, pero se puede lograr la transferencia horizontal en presencia de plásmidos auxiliares. La transferencia satisfactoria requiere la presencia de una región de movilización en el pYV que se encontró en el pYV de varias cepas de *Y. pseudotuberculosis* y de *Y. pestis* pero no en el pYV de la *Y. enterocolitica*.

En general, se ha descrito la transferencia horizontal de genes entre cepas de *Yersinia*, pero se ha descubierto que ocurre raramente en condiciones de laboratorio.

Se ha descubierto que la estabilidad genética del plásmido de virulencia de *Yersinia* (pYV) es alta debido a un sistema de replicación y partición específico que está muy conservado en la *Y. enterocolitica* y en la *Y. pseudotuberculosis*. Estos resultados están sustentados por los propios datos del promotor que demuestran que pYV se mantiene en cultivos líquidos sin necesidad de una presión selectiva. Además, se observó que pYV se mantenía durante varios días de crecimiento dentro de tumores en los modelos de tumores murinos.

Modificación genética

El OMG, T3P-Y058-739, deriva de la subespecie *paleartica* poco virulenta de *Y. enterocolitica* que es deficiente para la adquisición de hierro debido a la ausencia de isla de patogenia elevada (IPE) que codifica el sideróforo Ybt. Además, se han introducido las siguientes modificaciones genéticas para reducir aún más la virulencia y conferir a la cepa su actividad terapéutica:

1. La supresión de uno de los dos genes naturales de resistencia a la ampicilina, la β -lactamasa A (*blaA*), conduce a una mayor susceptibilidad a las penicilinas en comparación con la *Y. enterocolitica* E40.
2. La eliminación de los genes plasmídicos que codifican las seis proteínas efectoras de virulencia fundamentales YopH, YopO, YopP, YopE, YopM y YopT, y se introducen las secuencia que codifican las proteínas de fusión YopE₁₋₁₃₈-RIG-I-CARD (RIG-I-CARD proteína de origen humano inducible por ácido retinoico 1 [RIG-I] con dominio de activación y reclutamiento de caspasa [CARD]) y YopE₁₋₁₃₈-cGAS (GMP-AMP sintasa cíclica [c-GAS]. RIG-I-CARD y cGAS, inducen una respuesta de interferón de tipo I tras la translocación por el T3SS en células eucariotas.
3. La introducción del plásmido 739 que codifica las proteínas de fusión YopE₁₋₁₃₈-RIG-I-CARD y YopE₁₋₁₃₈-cGAS en una estructura de operón y el gen que codifica cloranfenicol.

Las modificaciones genéticas se generaron en un vector plasmídico que ha sido diseñado específicamente para permitir eliminaciones/inserciones por eventos de recombinación homóloga: es



un plásmido suicida, que confiere resistencia a estreptomycin, que puede transferirse de *E. coli* a la *Y. enterocolitica* por conjugación y permite la selección por sacarosa.

Evaluación del riesgo

-Virulencia

La cepa resultante (T3P-Y058-739) presenta una marcada reducción de la virulencia, debido a que se sabe que la eliminación de determinados genes de *Yersinia*, por ejemplo, YopH o YopM, reduce drásticamente la virulencia de la bacteria en modelos murinos. Esto se sustenta en estudios preclínicos que indican que T3P-Y058-739 se tolera bien tras dosis únicas y múltiples por vía i.v., i.t. o intramuscular (i.m.) (para imitar la administración i.t. en animales que no tienen tumores). Se descubrió que las bacterias se eliminaban rápidamente de la circulación y de los tejidos normales y que colonizaban selectivamente los tumores. Como era de esperar en un tratamiento con bacterias vivas, se observaron efectos dependientes de la dosis, transitorios y reversibles, en el peso corporal y la ingesta de alimentos y el consumo de agua, así como una temperatura corporal elevada tras la administración a animales con capacidad inmunitaria.

En estudios posteriores, se descubrió que la dosis máxima tolerada (DMT) para una cepa similar (con eliminación de las seis proteínas efectoras, y expresión y administración basada en el T3SS de la YopE₁₋₁₃₈-murino-RIG-I-CARD) administrada mediante inyección i.v. reiterada en ratones *Balb/c* portadores de tumores era de 5×10^7 UFC por inyección. En comparación, la dosis letal media (DL₅₀) para una cepa correspondiente de tipo natural de *Y. enterocolitica* (grupo de baja patogenicidad, pero con las seis proteínas efectoras aún presentes) en ratones *Balb/c* sin tumores fue de 5×10^3 UFC, es decir, diez mil veces inferior. La marcada diferencia en la patogenicidad de las cepas de *Y. enterocolitica* modificadas genéticamente frente a las de tipo natural sustenta la opinión de que las cepas de *Y. enterocolitica* con eliminaciones de las seis proteínas efectoras ($\Delta yopHOPEMT$) y las cepas derivadas de las mismas (por ejemplo, T3P-Y058-739) están muy atenuadas, con una marcada reducción de la patogenicidad en comparación con la *Y. enterocolitica* de tipo natural.

El riesgo de secuelas postinfecciosas (como manifestación de alergenidad) en pacientes que reciben T3P-Y058-739 como tratamiento para el cáncer no está claro. Según estudios en pacientes con gastroenteritis por *Yersinia* documentada, alrededor del 25% de los pacientes adultos pueden sufrir estas complicaciones. La positividad del HLA-B27 (sugiere un riesgo mayor al promedio de desarrollar o tener ciertos trastornos autoinmunitarios) es un factor de riesgo para el desarrollo de secuelas postinfecciosas tras una infección bacteriana adquirida de forma natural de muchos tipos. Es probable que los pacientes que participen en el primer ensayo en seres humanos (PEH) tengan la misma frecuencia de HLA-B27 que la población, por lo que no correrán un riesgo mayor que la población general en este sentido.

El riesgo en los pacientes que participarán en el ensayo puede ser menor que en los pacientes que sufren gastroenteritis debido a *Yersinia* adquirida en la comunidad porque T3P-Y058-739 se administrará mediante inyección i.t. o perfusión i.v. Por lo tanto, no existirá una fase inicial de inflamación gastrointestinal y el paso de antígenos bacterianos al sinovio o a otros sitios probablemente no tendrá lugar a través de los vasos linfáticos mesentéricos. Por otro lado, es probable que los pacientes del PEH sean mayores que los pacientes que sufren gastroenteritis por *Yersinia* en la comunidad (generalmente niños) y la edad avanzada/adulta es un factor de riesgo para el avance de las secuelas postinfecciosas. Además, los pacientes del PEH estarán expuestos a T3P-Y058-739 en múltiples ocasiones durante un periodo de 4 semanas, un patrón de exposición bastante diferente al que ocurre en la comunidad. Esto podría aumentar las posibilidades de que los pacientes presenten



secuelas postinfecciosas. Sin embargo, en el contexto de una neoplasia maligna avanzada, el riesgo de sufrir secuelas postinfecciosas tras el tratamiento antineoplásico con T3P-Y058-739 se considera aceptable.

Colonización

Se ha demostrado que la eliminación de las seis proteínas efectoras reduce en gran medida la capacidad de la bacteria para causar bacteriemia y colonización de tejidos normales. Sin embargo, la colonización de los tumores no parece verse afectada. La permisividad de los tumores sólidos para la colonización y replicación bacteriana se atribuye a un sistema inmunitario poco activo dentro del microentorno tumoral. Dado que las proteínas efectoras eliminadas funcionan principalmente para proteger a las bacterias de la fagocitosis de las células inmunitarias, puede concluirse que la fagocitosis obstaculizada en los tumores sólidos (a diferencia de la fagocitosis normal en los tejidos sanos) es un factor importante. Esto coincide con la bibliografía según la cual se descubrió que los macrófagos asociados a tumores muestran una capacidad fagocítica deteriorada.

En los ratones, el gen *inv* que está codificado cromosómicamente y que codifica una proteína de la membrana externa llamada invasina, es el gen propicio para la invasión intestinal (tras la ingestión oral). La invasina media la penetración de *Yersinia* a través de la barrera mucosa de las placas de Peyer dirigiéndose a las células epiteliales membranosas (M) intestinales. También es esencial para la colonización y la persistencia de *Y. enterocolitica* en su hospedador reservorio natural, el cerdo. El gen *inv* no se ha alterado en T3P-Y058-739, ya que la ausencia de esta proteína de membrana reduce la liberación de proteínas basada en la T3SS, necesaria para la actividad terapéutica. Dado que se sabe que la invasina es el principal factor de invasión de la *Y. enterocolitica*, la colonización del revestimiento epitelial del intestino de humanos y animales (concretamente de cerdos) por T3P-Y058-739 podría ocurrir potencialmente. Sin embargo, debido a que T3P-Y058-739 se administrará mediante inyección i.t. directa o perfusión i.v., no se espera que ocurra una exposición intestinal, excepto posiblemente en pacientes que tengan una inyección i.t. directa en una lesión muy próxima a la orofaringe.

En resumen, se espera que T3P-Y058-739 pueda colonizar el revestimiento epitelial del intestino de los hospedadores naturales mediante la invasión de células M. Sin embargo, no se espera que ocurra una exposición intestinal (por ingestión oral) tras la administración de T3P-Y058-739, excepto quizá en una pequeña minoría de pacientes con un tumor muy próximo a la orofaringe. Debido a la ausencia de la IPE y a la eliminación de las seis proteínas efectoras, es poco probable que ocurra una enfermedad sistémica en personas sanas tras la ingestión oral (accidental) de T3P-Y058-739, y como mucho se esperaría una enfermedad diarreica leve (menos grave que la causada por *Y. enterocolitica* de tipo natural).

-Diseminación

Basándose en los datos clínicos de infecciones por *Y. enterocolitica* natural y en estudios no clínicos de T3P-Y058-739 y cepas relacionadas, no se espera que T3P-Y058-739 se excrete al medioambiente tras su administración a los pacientes. Sin embargo, no puede descartarse la posibilidad de excreción en las heces, debido a que puede detectarse *Y. enterocolitica* natural en las muestras de heces tras una gastroenteritis inducida por *Y. enterocolitica*. En estos casos adquiridos de forma natural, la *Y. enterocolitica* habría entrado en el intestino por vía oral, mientras que en los pacientes tratados con T3P-Y058-739, la bacteria entrará en el organismo por inyección i.t. o perfusión i.v. La excreción al intestino desde la circulación no es la dirección habitual de paso de *Y. enterocolitica* y, en consecuencia, parece poco probable que se produzca. Sin embargo, es plausible que en algunos



pacientes (sobre todo los que tienen tumores que afectan a la orofaringe o están cerca de ella) la inyección directa de T3P-Y058-739 en el tumor pueda provocar una fuga hacia la orofaringe o el esófago y, por tanto, la entrada en el intestino de la forma habitual.

El aislamiento de *Y. enterocolitica* a partir de la orina parece ser muy poco común. Solo se han encontrado cuatro casos en publicaciones y estos incluían a pacientes con obstrucción del flujo urinario de larga duración y/o crecimiento mixto de organismos asociados a infecciones urinarias recurrentes o al sondaje.

La neumonía por *Y. enterocolitica* se notificó ocasionalmente, pero generalmente en el contexto de la bacteriemia. La neumonía tras la inhalación de *Y. enterocolitica* procedente del medioambiente o de otro paciente no parece haberse notificado en las publicaciones. En consecuencia, parece muy improbable que ocurra la excreción de T3P-Y058-739 en el aliento y la transmisión por inhalación.

También parece improbable que ocurra la excreción de T3P-Y058-739 en la saliva, dado que no parece haberse informado de la transmisión de *Y. enterocolitica* en mordeduras humanas o de animales.

Y. enterocolitica se puede transmitir en los hemoderivados. Sin embargo, esto ocurre tras la conservación de la sangre donada en condiciones que permiten la proliferación de las bacterias, a veces hasta alcanzar concentraciones elevadas. Es improbable que la exposición accidental del personal a la sangre de un paciente tratado con T3P-Y058-739, por ejemplo, por un pinchazo de aguja, suponga un riesgo para el personal (más allá de los peligros habituales de estos accidentes) debido a que T3P-Y058-739 se elimina rápidamente de la sangre y es probable que solo esté presente en concentraciones bajas en la sangre del paciente.

Es posible que T3P-Y058-739 pueda filtrarse de las zonas de inyección tras la administración por vía i.t. o estar presente en los exudados de tumores ulcerados y contaminar así los apósitos. En consecuencia, se recomienda mantener las zonas de inyección cubiertas durante al menos 3 días después del tratamiento. Los tumores ulcerados, exudativos o que supuran tras la administración por vía i.t. o i.v. se tendrán que cubrir durante al menos 14 días tras la administración o hasta que se curen o hasta completar la pauta de antibióticos para erradicar T3P-Y058-739. Los pacientes recibirán instrucciones de un profesional sanitario para colocar y reemplazar el apósito si se cae. Se aconsejará a los pacientes que coloquen los apósitos usados y los materiales de limpieza en una bolsa de plástico sellada, ya que pueden estar potencialmente contaminados.

Es importante destacar que, aunque T3P-Y058-739 se excretara al medioambiente en las heces, la orina, la saliva o la sangre de los pacientes tratados con T3P-Y058-739 o estuviera presente en los apósitos sucios, sería menos patógena que *Y. enterocolitica* natural (y que otros microorganismos que podrían estar presentes en estos líquidos). Además, sin la administración conjunta de deferoxamina, no se esperaría que se produjera una colonización normal de los tejidos (como puede ocurrir tras una gastroenteritis por *Y. enterocolitica* natural) en la persona en caso de exposición, debido a la ausencia de proteínas Yop y a la deficiente adquisición de hierro por T3P-Y058-739.

-Trasmisión de material genético

Los pacientes con una infección reciente por *Y. enterocolitica* o con *Y. enterocolitica* natural presente en una muestra de heces de referencia no podrán entrar en el estudio. Por consiguiente, T3P-Y058-739 no se encontrará con la *Y. enterocolitica* dentro del tubo gastrointestinal del paciente. La exposición de otras bacterias a T3P-Y058-739 no puede excluirse totalmente en esta situación. Sin embargo, se descubrió que la transferencia horizontal de genes ocurría raramente entre cepas de



Yersinia y existen muy pocos indicios sobre la transferencia entre la *Y. enterocolitica* y otras bacterias en las publicaciones. Además, es importante observar que en T3P-Y058-739 están ausentes los principales factores de virulencia (IPE y varios efectores de virulencia fundamentales). Por lo tanto, la transferencia horizontal de elementos genéticos de T3P-Y058-739 a otras cepas de *Yersinia* no conferiría virulencia y se esperaría que las cepas resultantes tuvieran una patogenicidad muy reducida en comparación con *Yersinia* patógena natural.

La transferencia horizontal de elementos genéticos también es muy poco probable que ocurra en apósitos sucios, debido a que *Y. enterocolitica* natural no es un comensal de la piel y es muy poco probable que se encuentre en este entorno.

Así mismo, la probabilidad de que la transferencia horizontal de genes de cepas endógenas de *Yersinia* a T3P-Y058-739 diera lugar a una cepa más patógena que *Yersinia* patógena natural parecen insignificantes.

Otras bacterias, como las comensales de la piel o posiblemente incluso patógenas, como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) podrían estar presentes en los apósitos para heridas. Sin embargo, la transferencia de material genético de especies bacterianas distintas a la *Enterobacteriaceae* a la *Y. enterocolitica* no se ha descrito. Por lo tanto, la posibilidad de transferencia genética de otras bacterias (como los genes de resistencia a múltiples fármacos del SARM) parece extremadamente improbable.

La transferencia horizontal de genes de T3P-Y058-739 a otras bacterias podría teóricamente dar lugar a la transferencia del plásmido 739 que codifica las proteínas de fusión terapéuticas. El plásmido 739 es un plásmido de copia media y el origen de replicación limita su propagación ya que tiene un rango de hospedadores limitado, es decir, *Enterobacteriaceae*, *Serratia marcescens* y *Yersinia*.

En estas especies de hospedadores potenciales, si se produjera la transferencia, no se espera que los transgenes humanos proporcionen una ventaja competitiva.

Se eligió la resistencia al cloranfenicol porque el uso terapéutico de este antibiótico en humanos se ha limitado durante muchos años al tratamiento tópico de enfermedades oculares. Esto se debe a los raros casos de anemia aplásica y a la genotoxicidad potencial asociada al fármaco, así como a la disponibilidad de antibióticos más eficaces. Además, el antibiótico ha sido prohibido en la producción de alimentos en la Unión Europea. En la atención sanitaria veterinaria, el cloranfenicol se recomienda como antibiótico de tercera línea solo para ser utilizado cuando ningún antibiótico de primera o segunda línea es eficaz y el tratamiento antimicrobiano tópico no es factible o eficaz.

Debido a la prohibición del cloranfenicol en la producción de alimentos y a su uso limitado en la atención sanitaria humana y veterinaria, se espera una exposición limitada o nula de T3P-Y058-739 al cloranfenicol en sus hospedadores y en el medioambiente. Esto lo sustentan varios estudios que encontraron solo concentraciones bajas de cloranfenicol en muestras ambientales, concentraciones que estaban significativamente por debajo de la concentración inhibitoria mínima (CIM) descrita para el cloranfenicol en cepas naturales de la *Y. enterocolitica*. Teniendo esto en cuenta, no parece probable una ventaja competitiva de T3P-Y058-739 sobre las cepas de *Yersinia* de tipo natural debido a su resistencia al cloranfenicol.

La resistencia al cloranfenicol proporcionaría una ventaja competitiva en presencia de cloranfenicol y, por lo tanto, no es deseable. La enzima que confiere la resistencia (cloranfenicol acetiltransferasa, CAT) solo reconoce y acetila el cloranfenicol y los derivados cercanos. Por lo tanto, no se espera que la codificación de la CAT confiera resistencia cruzada a ningún otro antibiótico. En los participantes



del ensayo clínico, las bacterias a las que teóricamente podría transferirse el plásmido 739 crecerían sin presión selectiva y el plásmido 739 se diluiría y acabaría perdiéndose sin exposición al cloranfenicol.

-Manipulación, control, tratamiento de residuos

Se recomienda el lavado de manos y las medidas habituales de inocuidad de los alimentos para prevenir la transmisión de *Y. enterocolitica* natural. En general, no se recomiendan precauciones higiénicas especiales (mascarilla, guantes, bata protectora) para las personas que atienden a los pacientes con gastroenteritis por *Y. enterocolitica*. En consecuencia, no se consideran necesarias precauciones higiénicas especiales (más allá del lavado de manos y las medidas habituales de inocuidad de los alimentos) para el personal de enfermería y otras personas implicadas en el cuidado de los pacientes en este estudio. No obstante, todo el personal médico que prepare y administre T3P-Y058-739 utilizará el equipo básico de protección personal (guantes, bata protectora o de laboratorio, mascarilla y protección ocular) para evitar la exposición accidental.

La manipulación, la preparación de las dosis, los procedimientos de administración y la eliminación de los residuos se realizarán de acuerdo con los procedimientos de los centros hospitalarios.

Las medidas de bioseguridad se recogen en el Manual de Farmacia. Se recomienda, pero no es obligatorio, utilizar una cabina de seguridad biológica cuando se prepare T3P-Y058-739 para su administración al paciente, la utilización de bata, gafas de seguridad y mascarilla o careta y guantes mientras prepara T3P-Y058-739, cubrir cualquier herida expuesta y evitar el contacto con la piel, los ojos y las mucosas. Las mismas precauciones se aplicarán cuando se administre T3P-Y058-739 por inyección i.t. Tras la administración, cambiar los guantes (o usar dos pares y eliminar el exterior) antes de aplicar los apósitos oclusivos a las lesiones inyectadas. Limpiar el exterior de los apósitos oclusivos con una toallita con alcohol. No se requieren precauciones especiales para la administración de perfusiones i.v.

T3P-Y058-739 no es más resistente que otros microbios, por lo que deben aplicarse los procedimientos y productos habituales de desinfección de los centros hospitalarios y después de cada preparación o administración.

Los materiales que hayan estado en contacto con T3P-Y058-739 (por ejemplo, viales usados, jeringuillas, equipos de administración intravenosa, algodón o gasas) se gestionaran de acuerdo con los procedimientos de los centros hospitalarios como residuos de riesgo biológico.

Se desinfectará a fondo el equipo y las superficies de acuerdo con las prácticas médicas habituales, con etanol al 70%, hipoclorito sódico al 1%, ácido peracético al 2%, peróxido de hidrógeno al 3%-6% o sustancias equivalentes. Todos los materiales desechables que hayan entrado en contacto con T3P-Y058-739 (por ejemplo, viales usados, jeringuillas, equipos de administración intravenosa, algodón o gasas) se eliminarán de acuerdo con los procedimientos de los centros hospitalarios como organismos modificados genéticamente o residuos de riesgo biológico, según proceda.

-Recomendaciones a los pacientes

T3P-Y058-739 se administrará en un entorno hospitalario, pero se permitirá a los pacientes irse a casa entre los tratamientos (aparte de los ingresos nocturnos para facilitar la supervisión y las muestras tras la primera dosis).

Se aconsejará a los pacientes lavarse las manos y tomar precauciones de higiene alimentaria, que cumplan los requisitos del protocolo sobre métodos anticonceptivos de barrera durante las relaciones



sexuales y que tengan cuidado con las personas inmunodeprimidas o los neonatos para minimizar la posibilidad de intercambio directo de fluidos.

En teoría, la transmisión a otros animales, como conejos, ratones, gatos y perros puede ocurrir. De nuevo, se aconsejará el lavado de manos y las precauciones de higiene alimentaria responsables para evitarlo (en humanos).

La CNB recuerda que durante la manipulación de las muestras procedentes de pacientes a las que se ha administrado el OMG se deben aplicar medidas correspondientes al nivel de bioseguridad 2 (BSL-2).

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 22 de septiembre de 2023