



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UNA COMBINACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/05/01)

Título del ensayo:

"Prueba de campo de una vacuna frente a la Leishmaniosis canina".

Características del ensayo:

El Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas presenta una solicitud para realizar una prueba de vacunación mediante inoculación subcutánea en perros de una combinación de organismos modificados genéticamente: un plásmido pORT-LACK y una cepa atenuada (Ankara) del virus vaccinia conteniendo el mismo gen (MVA-LACK) para el estudio en Fase III de una vacuna frente a la Leishmaniosis canina. Tanto el plásmido como el virus citado se utilizan como vehículos del gen del antígeno protector LACK.

El estudio se basa en la administración subcutánea con un intervalo de 2 a 3 semanas en alrededor de 400 perros de diferentes razas de 12 semanas o más de edad en el campo. Este estudio se localizará en tres zonas de la Comunidad Autónoma de Aragón, consideradas endémicas de esta enfermedad y tendrá una duración de 2 años, comenzando la vacunación a mediados de abril de 2005.

Habrà personal del CIB-CSIC, de la Universidad de Zaragoza, así como de la empresa Pfizer Animal Health implicado en el estudio, objeto de un acuerdo de investigación y de cesión de licencia.

Las dosis propuestas para cada tipo de producto son: para el plásmido DNA-LACK de 100ug/mL y para el MVA-LACK de 1×10^8 Pfu/mL.

El objetivo principal del ensayo es la evaluación de la seguridad y eficacia de la vacuna de *Leishmania infantum* y confirmar los resultados previamente obtenidos en laboratorio de protección de animales frente a esta enfermedad mortal para los perros.

Características de los OGMs:

Plásmido pORT-LACK: Se trata de un plásmido modificado derivado del pCI-neo al que se le han eliminado los genes de resistencia a antibióticos y se incluye el gen LACK que codifica para el antígeno protector LACK (receptor de la proteína quinasa C activada de *L. infantum*). Dicho plásmido contiene la estructura mínima necesaria para expresarse en las células diana y producir mínimas cantidades en las células diana del huésped e inducir la producción de mínimas cantidades del antígeno LACK para activar el sistema inmune del organismo receptor en forma natural.

Vector pORT-LACK: Se trata del virus vaccinia de la cepa Ankara que está atenuado de forma que sólo induce una ronda de replicación una vez que ha infectado la célula en la célula diana del huésped receptor. No es patógeno y no se transmite de un animal a otro.



El motivo de utilizar conjuntamente en dosis consecutivas el plásmido y el virus es porque, basados en ensayos experimentales anteriores, se observa que la respuesta en la inducción de protección frente a la infección y la enfermedad se incrementa hasta un 60% con esta formulación.

Identificación de riesgos potenciales:

1) Estabilidad genética:

En el expediente no se han encontrado datos concluyentes sobre estabilidad genética de las construcciones. **Por tanto, deberá aclararse si las secuencias utilizadas en la manipulación genética no sufren cambios en el huésped aportando resultados de ensayos en donde se aislen tanto el vector como el plásmido recuperados de perros y se determine si se mantiene la misma estructura genética en varios pases en células, o bien se suministren otros datos experimentales previos en los que se haya comprobado la estabilidad de estos vectores en otros sistemas, como cultivos celulares. Esta información deberá aportarse en cuanto esté disponible.**

2) Patogenicidad:

El plásmido pORT-LACK (6,4 kb) que expresa la proteína LACK, no se considera patógeno y además se han eliminado las secuencias de resistencia a antibióticos del vector inicial. También carece de capacidad de colonización y necesita ser capturado por las células del sistema fagocítico para ser reconocido por el Sistema Inmune del perro. No tiene incidencia sobre la salud animal o humana. No es alergénico.

El vector viral vaccinia de la cepa Ankara, aunque es capaz de infectar al hombre, según la documentación aportada que incluye referencias bibliográficas, esta cepa está altamente atenuada y es avirulenta entre animales normales o inmunodeprimidos y segura entre los humanos.

3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:

Los organismos utilizados en la prueba no se han convertido en persistentes en los experimentos realizados en el laboratorio. El máximo tiempo en que se han detectado características genéticas del vv-LACK *Ankara* han sido seis meses (periodo menor que el propuesto para la prueba). En el caso del plásmido pORT-LACK no se detectó presencia de sus componentes después de tres meses de su introducción en el huésped.

Se trata de dos OMGs con una desventaja selectiva y sin capacidad de transferir genes a otras especies en las condiciones propuestas en el experimento.

Los ensayos de laboratorio sobre biodistribución (presencia de virus o plásmido en heces y orina de los perros vacunados) han demostrado que no se detecta su presencia en productos fisiológicos.

4) Efectos sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente:

El plásmido utilizado como vehículo para la introducción del gen protector LACK de *L. Infantum* ha sido reducido, eliminando los factores de resistencia a antibióticos, por lo que su capacidad de supervivencia fuera de una célula eucariótica del huésped es nula. La variedad *Ankara* del virus



vaccinia se reproduce con gran dificultad en las condiciones de laboratorio, siendo inviable en el medio ambiente. Fuera de las condiciones descritas para llevar a cabo la liberación al medio ambiente, reflejadas en la notificación, sólo puede sobrevivir en células modificadas existentes sólo en los laboratorios especializados. No produce, por tanto, enfermedades humanas ni animales, no afectando tampoco a las poblaciones existentes en el entorno del receptor ni a su diversidad genética.

No parece existir una susceptibilidad alterada respecto a patógenos que faciliten la difusión de enfermedades infecciosas, ni afectan los tratamientos médicos, veterinarios o de protección fitosanitaria.

5) Control y tratamiento de muestras, residuos y transporte

Los residuos capaces de ser producidos durante la liberación pueden ser:

- Excretas de los animales: Los ensayos realizados previamente en el laboratorio sobre la excreción en heces y orina de virus, realizados en 23 animales, ofrecen resultados negativos en todos los casos. Ante esta situación, no se considera que se le deba dar especial tratamiento a este tipo de residuos.
- Animales fallecidos durante la liberación: La Comisión Nacional de Bioseguridad considera adecuadas las medidas propuestas para llevar a cabo el control post-mortem de los animales objeto de estudio, consistentes en la incineración llevada a cabo por personal veterinario contratado, previa comunicación anterior al supervisor del estudio.
- Vehículos de vacunación utilizados: La vacunación será llevada a cabo por personal veterinario especializado, y tras ésta, los viales deberán ser desechados siguiendo un estricto control y sujetos a métodos de esterilización y recogida selectiva de gestión de residuos.
- Transporte y manejo de las muestras: Se deberá tener en cuenta la legislación aplicable, como es el caso de la normativa de transporte de mercancías peligrosas vigente en la Unión Europea, y más concretamente la Clase 6.2. del *Acuerdo Europeo sobre Transporte Internacional de mercancías peligrosas por carretera (ADR-2005)*.
- En el caso de que se produzca cualquier incidente o accidente se deberá informar de manera inmediata al Ministerio de Medio Ambiente.

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

Una vez concluido los ensayos de campo con la esta combinación de organismos modificados genéticamente, se remitirá un **informe de resultados** de los mismos a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En dicho informe se deberá incluir información sobre incidencias, si las hubiera, (perro muerto...) y los datos finales sobre la circulación de dosis de vacunas y de muestras que ha habido (número, destino, fechas, etc.).

La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 21 de Abril de 2005

