



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE POXIVIRUS MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/16/10)

Título del ensayo

“Estudio de la eficacia y la seguridad en campo de Vectormune FP-LT+AE aplicado en la membrana del ala a pollitas, futuras ponedoras comerciales”.

Características del ensayo

Ceva Salud Animal, S.A presenta una solicitud para realizar un ensayo con Vectormune FP-LT+AE, vacuna recombinante viva desarrollada para la prevención de la viruela aviar (FP) y la laringotraqueítis infecciosa (ILT) en pollos, asociada, en la misma presentación liofilizada, a una cepa vacunal convencional para la prevención de la encefalomiелitis aviar (AE).

La vacuna consiste en una cepa vacunal viva del virus de la viruela aviar (Fowlpox virus – FPV), expresando los genes *gB* y *UL-32* del virus de la laringotraqueítis infecciosa (LTV) y una cepa vacunal viva convencional de encefalomiелitis aviar (AE).

Administración

Un máximo de 37.000 pollitas de 11 semanas de edad serán vacunadas en la membrana del ala. La dosis a administrar es de $3,5 \log_{10}$ DICT50.

El estudio se va a realizar en:

1) Granja 1 de pollitas de recría:

Explotación: Ous de Ponent, Linyola (Lleida) comarca Pla d’Urgell

La explotación cuenta con 2 naves, cada una de ellas con planta y piso. El ensayo se llevará a cabo en la nave más alejada del camino con la siguiente capacidad:

- Planta: capacidad para aproximadamente 35.000 pollitas distribuidas en baterías de 4 filas x 4 pisos. Los animales se vacunaran con vacunas comerciales.
- Piso: capacidad para aproximadamente 40.000 pollitas distribuidas en baterías de 2 filas x 3 pisos y 3 filas x 4 pisos. La vacunación con el OMG se llevará a cabo en esta planta.

2) A las 16 semanas de vida las pollitas vacunadas serán trasladadas a la Granja 2 de animales de puesta:

Explotación: Avícola Huguet, S.A., Maldà (Lleida) comarca de l’Urgell.

La explotación cuenta con 3 naves. Las pollitas de puesta procedentes de “Ous de Ponent” se ubicaran en la nave A con capacidad para 36.500 gallinas distribuidas en baterías de 4 filas x 6 pisos y en la nave B con capacidad para 24.500 gallinas distribuidas en baterías de 4 filas x 4 pisos.



Seguimiento

Se tomarán muestras de las aves para verificar la respuesta vacunal y de las aves no vacunadas de los grupos control para ver si el OMG se ha propagado a éstas.

El control de las pollitas vacunadas se realizará durante todo el periodo de cría y de puesta (un año aproximadamente). Se controlará diariamente el estado clínico de los animales. Se tomarán muestras de sangre para serología y muestras para PCR al menos 3 veces durante el estudio para confirmar que la cepa vacunal rFP-LT no persiste en las aves vacunadas a lo largo del estudio.

Características del OMG

Virus vacunal vivo de la viruela aviar (FPV, Cepa vacunal Cutter), modificado genéticamente, portador de los genes *gB* y *UL-32* del virus de la laringotraqueítis infecciosa (LTV), y el gen *lacZ* de *E.coli*.

Los tres genes se colocan bajo el control de los promotores sintéticos Ps (para *gB* y *UL-32*) y P17 (para *lacZ*) con secuencias consenso de los promotores tardío/temprano de poxvirus.

La obtención del OMG se realizó mediante transfección con los plásmidos portadores de los genes de interés de fibroblastos de embrión de pollo (CEF) infectadas con el virus parental FPV y recombinación entre secuencias homólogas. El sitio de inserción es el ORF1 que no tiene función conocida y no altera el fenotipo del virus.

Identificación de riesgos potenciales

1) Estabilidad genética

Se realizaron ensayos *in vivo*, en pollos, e *in vitro*, en CEF, para comparar la estabilidad genética del OMG con la cepa parental de FPV, no observando modificaciones de la secuencia genética ni de la expresión de proteínas.

2) Patogenicidad

Los virus de la viruela aviar no se consideran de importancia para la salud pública y no se ha descrito ninguna infección en humanos. La cepa FPV es una cepa vacunal no virulenta.

A pesar de que se han administrado más de 4 millones de dosis de la vacuna Vectormune FP-LT nunca se ha informado incidentes en los que esté involucrado el personal que vacuna. Por otra parte, el virus de la viruela aviar se ha utilizado en el desarrollo de vacunas frente al VIH observándose en estos casos únicamente una leve reacción en el sitio de la inoculación.

El OMG no presenta diferencias con la cepa parental respecto al rango de hospedadores, tropismo celular y capacidad de propagación.



La probabilidad de que los humanos estén en contacto con la vacuna a través de los excremento de las aves vacunadas se considera insignificante.

Es posible que parte de la vacuna pueda ser transmitida por el polvo y, si las partículas son lo suficientemente pequeñas (y tienen el virus todavía vivo), la vacuna puede ser inhalada por las personas de la granja. Sin embargo, no hay descritas situaciones adversas a partir de la utilización a largo plazo de la cepa Cutter, y otras cepas FV vacunales.

La diseminación a través de los mosquitos a una gallina no vacunada supone un riesgo insignificante ya que las cantidades que el insecto administrará serán muy pequeñas. En especies no diana el OMG no origina daños incluso a dosis elevadas. Teniendo en cuenta que FPV y avipoxvirus no se replican en humanos y que FPV ha demostrado ser seguro para ser utilizado como un vector potencial en el campo de la medicina humana, el riesgo para el ser humano de transmisión a través de mosquitos es insignificante.

3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Los virus de la viruela aviar soportan condiciones ambientales como la desecación. El OMG presenta una capacidad de supervivencia más baja a determinadas condiciones ambientales respecto al parental.

El intercambio de material genético puede ser posible entre virus que infectan a las mismas células del hospedador. Sin embargo, la superinfección vírica es un fenómeno poco probable. Aún así, la transferencia de los genes *gB* y *UL-32* no confiere ventaja y además no codifican proteínas implicada en la virulencia. Por otra parte los poxivirus, a diferencia de otros virus ADN, se replican en el citoplasma de la célula no en el núcleo.

Gestión de residuos

Preparación del OMG y Gestión de residuos

A parte de las normas generales para la utilización de vacunas parenterales, de las normas generales de higiene en las granjas de cría de pollitas y de los requisitos nacionales para la manipulación y la eliminación de los residuos de medicamentos y sus envases, no se requieren otras medidas de protección de los operarios:

Las naves de las granjas (de pollitas de recria y de puesta) se limpiarán, desinfectarán y prepararán, antes de la llegada de los animales, según el protocolo habitual de las granjas.

Después de la vacunación, aunque la probabilidad de que la vacuna sea propagada o diseminada por las aves vacunadas es muy baja, el riesgo para el medio ambiente se puede minimizar mediante el uso en un ambiente controlado y el cumplimiento de las prácticas de bioseguridad existentes en la granja como son:

- Las aves se mantendrán en la misma nave hasta que sean trasladadas a la granja de puesta. Esta nave es un edificio cerrado con acceso controlado.
- Los empleados de la granja no trabajan en otras granjas. El empleo de máscaras por parte de los equipos de vacunación es una medida usual en las vacunaciones en este entorno y no se



- trata de una precaución adicional por el manejo de esta vacuna; por este motivo no se considera como una protección específica de los trabajadores.
- Las batas que llevan los operarios durante la preparación y administración de la vacuna son desechables y serán destruidas por calor.
 - Todo el material utilizado para la vacunación será desinfectado *in situ* después de la vacunación.

Una vez que todas las aves han sido enviadas a la granja de puesta o al matadero, debe procederse a vaciar la comida de los comederos y tolvas, y el agua de los bebederos.

En caso de que el OMG pudiera ser derramado durante la fase de preparación puede inactivarse con desinfectantes habituales (cloro al 10%, yodo al 10% o desinfectante equivalente).

Los viales de vacuna no utilizados y no abiertos deberán ser devueltos al sponsor a través del director del estudio.

Todo el material no utilizado, los recipientes que contienen la vacuna y las herramientas empleadas en el procedimiento de vacunación, deben ser desinfectados en una solución (por ejemplo una solución de cloro).

En caso de mortalidad, los cadáveres de las pollitas serán recogidos diariamente y se conservarán en recipientes cerrados.

Transporte

Los cadáveres se transportarán una vez a la semana o más si fuera necesario, para su descontaminación, siguiendo las prácticas habituales de la explotación.

Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

En consecuencia, no se espera ningún impacto en la salud humana y el medio ambiente como resultado de las interacciones del virus de la viruela aviar modificado genéticamente que forma parte de la vacuna Vectormune FP-LT+AE y las personas que están involucradas en la manipulación y administración y no se prevén efectos sobre otros organismos no diana.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Autoridad Competente y a la Comisión Nacional de Bioseguridad.

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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. 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 10 de noviembre 2016