

**NOTIFICARE PENTRU INTRODUCEREA DELIBERATA IN MEDIU
A MEDICAMENTULUI TERAPEUTIC ADXS11-001
(GMO)**

Titlul Studiului Clinic:

**PHASE 3 STUDY OF ADXS11-001 ADMINISTERED FOLLOWING
CHEMORADIATION AS ADJUVANT TREATMENT FOR HIGH RISK
LOCALLY ADVANCED CERVICAL CANCER: AIM2CERV**

**SPONSOR:
ADVAXIS, INC, USA**

**NOTIFICATOR:
INVENTIV HEALTH CLINICAL ROMANIA**

13 Iunie 2017

Lista abrevierilor

Ac	anticorp
ADXS11-001	Imunoterapie Lm-LLO-E7 pentru cancerele asociate HPV
APC	Celule care prezintă antigen
Bp	Pereche de bază
BSL-2	Nivel de siguranță biologică 2
BMBL	Siguranța biologică în laboratoarele microbiologice și biomedicale
CAT	Cloramfenicol acetiltransferază
HLG	Hemoleucogramă completă
CFU	Unități formatoare de colonii
CMP	Profil metabolic extins
CRP	Proteină C reactivă
ESR	Viteza de sedimentare a eritrocitelor
FDA	Administrația pentru alimente și medicamente
OMG	Organism modificat genetic
GMP	Bună practică de fabricație
HIV	Virusul imunodeficienței umane
HPV	Virusul papiloma uman
HRLACC	Cancer de col uterin avansat local cu risc ridicat
LLO	Listeriolizina O
IND	Nou medicament investigațional
IV	Intravenos
Lm	Listeria monocytogenes
MHC	Complex major de histocompatibilitate
NaClO	hipoclorit de sodiu
NCI	Institutul național al cancerului
PCR	Reacție de polimerizare în lanț
EPP	Echipament personal de protecție
RAG	Reacții adverse grave
tLLO	LLO trunchiat
WT	de tip sălbatic

PARTEA 1 (DECIZIA CONSILIULUI 2002/813/CE)

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

Pentru a bifa una sau mai multe posibilități, vă rugăm să utilizați cruciulițe (însemnând x sau X) în spațiul furnizat ca (.)

A. Informații generale

1. Precizări privind notificarea

- (a) Statul membru la care se referă notificarea România
- (b) Numărul notificării B/././.....
- (c) Data confirmării de primire a notificării ././.....
- (d) Denumirea proiectului
UN STUDIU DE FAZĂ 3 CU ADXS11-001 ADMINISTRAT ÎN URMA CHIMIORADIOTERAPIEI CA TRATAMENT ADJUVANT PENTRU CANCERUL DE COL UTERIN LOCAL AVANSAT CU RISC CRESCUT: AIM2CERV (Advaxis Immunotherapy 2 prevent CERVical recurrence) [Imunoterapia Advaxis pentru prevenirea recurenței cervicale]
- (e) Perioada propusă pentru diseminare De la 01/09/2017 până la 31/12/2023

2. Notificator:

Denumirea instituției sau a societății:
INVENTIV HEALTH CLINICAL ROMANIA SRL
Bvd. Eroilor, no.22, sector 5
050513 Bucuresti, Romania

Sponsor: Advaxis, Inc.
305 College Road East
Princeton, NJ 08540, SUA

3. Caracterizarea OMG-ului

(a) Precizați dacă OMG-ul este:

- viroid (.)
- virus cu ARN (.)
- virus cu ADN (.)
- bacterie (x)
- ciupercă (.)
- animal (.)
- mamifer (.)

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

precizați încregătura, clasa ...

(b) Identitatea OMG-ului (genul și specia)

OMG-ul este o tulpină atenuată de *Listeria monocytogenes modificată prin inginerie pentru a exprima proteina de fuziune tLLO-E7*. Secvența de proteine E7 este derivată din papilomavirusul uman 16. Tulpina *Listeria monocytogenes* este numită axalimogene filolisbac și este cunoscută de asemenea ca ADXS11-001. Axalimogene filolisbac este un produs medicamentos clinic administrat pacienților pentru tratamentul cancerului.

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

Plasmida recombinantă care menține atenuarea în axalimogene filolisbac și exprimă antigenul tumoral E7 este menținută stabil *in vitro* și *in vivo*. Stabilitatea *in vitro* a plasmidei a fost evaluată prin cultivarea bacteriilor în prezența și în absența presiunii de selecție, utilizând antibioticul cloramfenicol. Plasmida este stabilă până la 70 de generații la nivelul bacteriilor atunci când este cultivată în absența selecției. Pentru a evalua stabilitatea potențială *in vivo* a plasmidei, axalimogene filolisbac a fost injectată unor șoareci, iar ulterior bacteriile au fost izolate din splina animalelor pentru introducerea în recipiente și evaluarea unităților formatoare de colonii (UFC) cu sau fără selecție pentru plasmidă. Nu s-au observat diferențe semnificative ale viabilității bacteriene cu sau fără selecție, indicând că plasmida aferentă axalimogene filolisbac este păstrată *in vivo* până ce bacteriile sunt eliminate de sistemul imunitar.

4. Diseminarea aceluiasi OMG este prevăzută și în alte state din Comunitate (în conformitate cu articolul 6 alineatul (1)) de către același notificator?

Da (x) Nu (.)

Dacă da, precizați codul (codurile) țării NL, PL, RO, ES

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

Da (X) Nu (.)

Dacă da:

- Statul membru la care se referă notificarea ES
- Numărul notificării B/ES/17/02

Vă rugăm să utilizați următoarele coduri de țară:

Austria AT; Belgia BE; Germania DE; Danemarca DK; Spania ES; Finlanda FI; Franța FR; Regatul Unit GB; Grecia GR; Irlanda IE; Islanda IS; Italia IT; Luxembourg LU; Țările de Jos NL; Norvegia NO; Portugalia PT; Suedia SE

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

Da (X) Nu (.)

Dacă da:

- Statul membru la care se referă notificarea Statele Unite ale Americii (utilizat în SUA pentru studii clinice sub numărul IND SUA 13712)
- Numărul notificării N/A

7. Concluzii privind impactul potențial al diseminării de OMG-uri asupra mediului.

Riscul de mediu provocat de spargerea flaconului este redus. Axalimogene filolisbac este o tulpină de *L. monocytogenes* atenuată, iar produsul este distrus cu ușurință și eliminat utilizând agenți de curățare antimicrobiană standard. Atunci când sunt tratați cu Axalimogene Filolisbac în cadrul studiilor clinice, pacienții vor primi stocuri de agenți antimicrobieni pentru 7 zile, începând cu aproximativ 72 de ore de la încheierea administrării tratamentului de studiu. De asemenea, furnizorii de servicii medicale din cadrul studiului clinic sunt instruiți în mod adecvat în gestionarea în siguranță a OMG-urilor și dispun de practici de siguranță biologică implementate în vederea reducerii la minimum a oricărei expuneri accidentale pentru mediu.

Pacienții sunt tratați cu antibiotice după administrarea produsului. Bacteriile ar trebui să fie eliminate prin tratamentul cu antibiotice.

Personalul medical care manipulează produsul a fost instruit corespunzător înainte de utilizarea produsului medicamentos.

Prin urmare, riscul de mediu prin intermediul pacienților este, de asemenea, foarte redus.

B. Informații privind organismele receptoare sau organismele parentale din care s-a obținut OMG-ul

1. Caracterizarea organismului receptor sau parental:

(a) Precizați dacă organismul receptor sau parental este:

(selectați numai unul)

viroid (.)
virus cu ARN (.)
virus cu ADN (.)
bacterie (x)
ciupercă (.)

animal:

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

(precizați încrângătura, clasa) ...

altul, precizați ...

2. Denumire

(i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) ...
(ii) gen *Listeria*
(iii) specie *monocytogenes*
(iv) subspecie ...
(v) sușă ...
(vi) patovar (biotip, ecotip, rasă, etc.) serovar 1/2 a
(vii) denumire comună XFL7 (tulpină avirulentă *L. monocytogenes*)

3. Distribuția geografică a organismului

(a) Autohton sau stabilit în țara în care se face notificarea:
Da (X) Nu (.) Nu se știe (.)

(b) Autohton sau stabilit în țările CE:

(i) Da (X)

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

Atlantic X..

Mediterranean X..

Boreal X..

Alpin X..

Continental X..

Macaronezian X..

(ii) Nu (.)

(iii) Nu se știe (.)

(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 (x)

sol, stare liberă (x)

sol, în simbioză cu sistemul radicular al unei plante (.)

în simbioză cu frunzele sau cu sistemul peduncular al unei plante (.)

alta, precizați Animale incluzând păsări de curte și bovine

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

Nu este cazul

5. (a) Tehnici de detecție

Listeria poate fi detectată prin introducerea în recipiente în medii de cultură bacteriană.

(b) Tehnici de identificare

Listeria poate fi detectată prin introducerea în recipiente în medii de cultură bacteriană și identificată prin metode biochimice specifice, cum ar fi benzile de identificare pentru Listeria.

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

Da (.) Nu (x)
Dacă da, precizați
...

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

8. Informații privind reproducerea
Listeria se reproduce prin fisiune binară.

(a) Timpul de generare în ecosistemele naturale:
40 de minute pentru o generare.

(b) Timpul de generare în ecosistemele în care va avea loc diseminarea:
Nu este cazul, deoarece tulpina *Listeria* nu este diseminată în ecosistem

(c) Modul de reproducere: Sexuată .. Asexuată
Nu este relevant

(d) Factori care afectează reproducerea:
Condițiile de dezvoltare.

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 (ciuperci) (.)
(v) spori sexuați (ciuperci) (.)
(vi) ouă (.)
(vii) pupe (.)
(viii) larve (.)
(ix) altele, precizați ...

Nu este cazul

(b) factori relevanți care afectează capacitatea de supraviețuire:
Condițiile de dezvoltare

10. (a) Moduri de diseminare

Listeria sunt în general bacterii derivate din sol; dar, *L. monocytogenes* se poate găsi și în alimente crude, cum ar fi laptele nepasteurizat, legumele crude și carnea de păsări de curte crudă sau puțin preparată termic. Are capacitatea de a se dezvolta la temperaturi scăzute, permițând astfel dezvoltarea în condiții de păstrare la frigider.

(b) Factori care afectează diseminarea
Condițiile de dezvoltare

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

..., B/./././...

ADXS11-001 este o tulpină mutantă de *L. monocytogenes* creată prin inserția unei plasmide recombinante (în mod specific tulpina precursor numită XFL7 care conține plasmida pGG55) căreia îi lipsește gena esențială de virulență *prfA*. *PrfA* este un factor de transcripție care acționează asupra unui număr de gene, incluzând toate genele de virulență, însă care nu este necesar pentru cultura de *Listeria* in vitro. De aceea, XFL7 este avirulentă, dar poate fi menținută în medii de cultură de tip bulion. Plasmida pGG55 poartă o copie a *prfA* cu mutație (mutația punctuală D133V). *prfA* cu mutație are o capacitate afectată de activare a expresiei genelor dependente de *prfA*, ceea ce duce la atenuarea ADXS11-001.

C. Informații privind modificarea genetică

1. Tipul de modificare genetică

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

2. Rezultatul preconizat al modificării genetice

Tulpina bacteriană utilizată în ADXS11-001 este tulpina mutantă XFL7 căreia îi lipsește gena esențială de virulență prfA. Această genă este un factor de transcripție care acționează asupra unui număr de gene, incluzând toate genele de virulență, cum sunt actA și LLO, însă care nu este necesar pentru cultura de Listeria in vitro. De aceea, XFL7 este avirulentă, dar poate fi menținută în medii de cultură de tip bulion.

Proteina recombinantă pe care se bazează vaccinul este exprimată din plasmida pGG55, care conține o fuziune între LLO inactivă și HPV16 E7, controlată de promotorul LLO. Plasmida poartă, de asemenea, o copie a prfA cu mutație (D133V) pentru retenția in vivo prin complementaritate cu tulpina prfA-negativă XFL7. Aceste gene au fost introduse în plasmida vehicul de bacterii Gram-pozitive/Gram-negative pAM401 (Wirth, An et al. 1986) care poate fi amplificată în E. coli și Listeria, deoarece manipulările genetice nu pot fi efectuate cu ușurință în organismele Gram-pozitive. Prin urmare, genele plasmidelor includ factori de replicare pentru bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, precum și markeri de selecție pentru antibiotice (cloramfenicol) pentru bacterii Gram-pozitive și Gram-negative.

Plasmida este reținută in vitro prin selecția cloramfenicolului, în timp ce complementaritatea prfA este inactivată. In vivo, plasmida este reținută de sistemul de complementaritate prfA, în absența presiunii de selecție a cloramfenicolului.

3. (a) S-a utilizat un vector în procesul de modificare?

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.

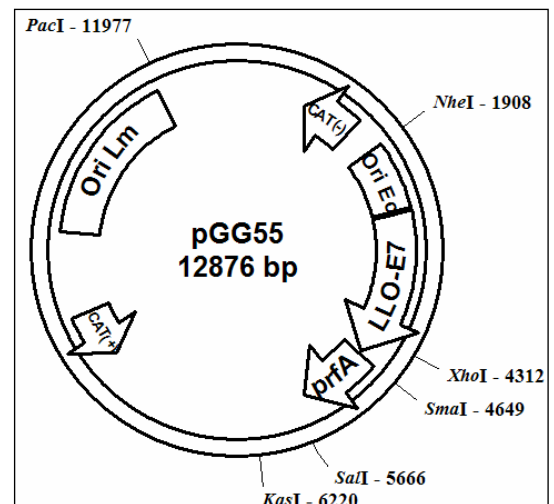
4. Dacă răspunsul la întrebarea 3(b) este da, precizați următoarele informații

(a) Tipul vectorului

plasmidă (x)
bacteriofag (.)
virus (.)
cosmidă (.)
transpozon (.)
altul, precizați ...

(b) Identitatea vectorului

Cartografierea schematică a plasmidei pentru pGG55 prezintă punctele de restricție selectate și toate genele active, după cum urmează: OriLM: gene de replicare pentru *L. monocytogenes*, OriEc: gene de replicare pentru *E. coli*, *prfA*: *L. monocytogenes prfA* incluzând promotorul său, tLLO-E7: proteina de fuziune a *L. monocytogenes hly* și HPV16 E7 incluzând promotorul *hly*, Cat(+): gena de rezistență la cloramfenicol pentru *L. monocytogenes*, Cat(-): gena de rezistență la cloramfenicol pentru *E. coli*. Plasmida pGG55 a fost secvențiată integral prin NCI.



(c) Ansamblul de gazde al vectorului
Se multiplică în bacterii Gram-pozitive și Gram-negative.

(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 de rezistență la antibiotice inserată

- Gena de rezistență la cloramfenicol în plasmida pGG55

- (e) Fragmente constitutive ale vectorului
Explicat la punctul 1b de mai sus
- (f) Metoda de introducere a vectorului în organismul receptor

- (i) transformare (.)
- (ii) electroporare (x)
- (iii) macroinjectare (.)
- (iv) microinjectare (.)
- (v) infectare (.)
- (vi) alta, precizați ...

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

Codificarea insertului proteinei de fuziune tLLO-HPV16E7 este indicată în cadrul schemei. Expresia proteinei de fuziune este controlată de promotorul de transcripție bacteriană și de secvențele de translație. Proteina HPV16E7 funcțională nu poate fi exprimată de nicio celulă eucariotă.

(b) Originea fiecărei părți constitutive a insertului

Plasmida vehicul pAM401 a fost utilizată ca suport în care au fost introduse două casete de expresie: (1) Gena care codifică factorul de transcripție prfA, inclusiv promotorul acestuia, pentru complementaritatea cu tulpina mutantă carentă XFL7 și (2) gena care codifică antigenul pentru vaccin HPV16 E7, fuzionată cu gena *Listeria hly* (tLLO), inclusiv promotorul *hly* în amonte de tLLO-E7. Toate secvențele recombinante au fost generate prin amplificare PCR înainte de ligare pentru a crea pGG55.

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

Plasmida pGG55 conține gene care includ factori de replicare pentru bacterii Gram-pozitive și Gram-negative, precum și markeri de selecție pentru antibiotice (cloramfenicol), atât pentru bacterii Gram-pozitive, cât și pentru bacterii Gram-negative. Porțiunea Gram-negativă a pAM401/pGG55 corespunde variantei pACYC184 comerciale, care a fost bine caracterizată (New England Biolabs). Gena prfA codifică PrfA cu mutație, pentru a asigura reținerea plasmidei de ADXS11-001 in vivo. Proteina de fuziune tLLO-E7 secretată de *axalimogene filolysabac* este responsabilă pentru generarea răspunsurilor imunitare specifice pentru proteina E7.

(d) Localizarea insertului în organismul gazdă

- pe o plasmidă liberă (x)
- integrat în cromozom (.)
- alta, precizați ...

(e) Insertul conține părți ale căror produse sau funcții nu sunt cunoscute?

- 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 (.)
 - virus cu ADN (x)
 - bacterie (.)
 - ciupercă (.)
 - animal
 - mamifer (.)
 - insectă (.)
 - pește (.)
 - alt animal (.)
- (precizați încrângătura, clasa) ...
- alta, precizați ...

2. Denumire completă

Virusul Papilloma uman 16

- (i) ordin și/sau taxon superior (pentru animale) ...
- (ii) denumirea familiei (pentru plante) ...
- (iii) gen ...
- (iv) specie ...
- (v) subspecie ...
- (vi) sușă tulpina 16 *human papillomavirus*
- (vii) cultivar/linie genealogică ...
- (viii) patovar ...
- (ix) denumire comună ...

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 (.)
plante (.)
altele ..

- (b) secvențele donate au vreun rol în proprietățile patogene 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):

Nu, deoarece gena E7 este clonată în plasmida specifică Listeriei pentru a exprima fuziunea proteinei tLLO-HPV16E7 care este non-funcțională și non-patogenă.

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 Organism BSL2. Gestionarea ADXS11-001 se face în concordanță cu practicile de biosiguranță de nivel 2 (BSL-2), echipamentul de protecție și cerințele unității se bazează pe clasificarea CDC (Centers for Disease Control and Prevention) a agenților bacterieni și pot fi găsite pe weblink-ul: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmb15/index.htm>

De pe acest site, la paginile 143 și 144 din "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories", CDC sugerează ca BSL-2 practici, echipament și utilități sunt recomandate atunci când se lucrează cu *Listeria monocytogenes* tipul salbatic. Pentru ADXS11-001, deși este atenuat față de *Listeria monocytogenes* tipul salbatic, este în continuare recomandat să se urmeze clasificarea BSL-2 de siguranță în timpul manipularii sale

5. Organismul donator și cel receptor fac schimb de 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 (X) Nu (.) Nu se știe (.)

Precizați: având în vedere că OMG-ul este atenuat, capacitatea de supraviețuire scade.

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

Da (.) Nu (x) Nu se știe (.)

Precizați ...

- (c) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al diseminării?
 Da (.) Nu (x) Nu se știe (.)
 Precizați ...
- (d) OMG-ul este diferit de organismul receptor din punct de vedere al patogenității?
 Da (X) Nu () Nu se știe (.)
 Precizați având în vedere că OMG-ul este atenuat, patogenitatea scade.

2. Stabilitatea genetică a organismului modificat genetic

Plasmida recombinantă pGG55 este menținută stabil de axalimogene filolisbac *in vitro* și *in vivo*. Stabilitatea a fost explicată anterior (a se consulta Secțiunea A 3c).

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)

4. Descrierea metodelor de identificare și detecție

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

Axalimogene filolisbac poate fi detectată prin introducerea în recipiente cu mediu de creștere selectiv pentru *L. monocytogenes* conținând antibioticele cloramfenicol și streptomycină.

(b) Tehnici utilizate la identificarea OMG-ului

Axalimogene filolisbac poate fi identificată prin utilizarea unei metode pe baza reacției în lanț a polimerazei (PCR). Rezultatul pozitiv la identificarea Axalimogene filolisbac conține o deleție specifică la nivelul genei *prfA* (XFL7) și secreția tLLO-E7 prin tehnica Western Blot. *L. monocytogenes* de tip sălbatic nu conține deleția specifică la nivelul genei *prfA* și secreția E7 poate fi distinsă ușor.

F. Informații privind diseminarea

1. Scopul diseminării (inclusiv potențiale avantaje ecologice importante prevăzute).
 Axalimogene filolisbac este un produs medicamentos clinic administrat pacienților prin perfuzie intravenoasă, pentru tratamentul cancerului cervical.

2. Situl diseminării 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. Locurile de diseminare sunt reprezentate de centrele de studiu clinic care participă la acest studiu clinic.

3. Informații privind locul diseminării și zona înconjurătoare

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

Spital/Departament	Adresa	Investigator
Spitalul Clinic Filantropia, Oncologie Medicala	Str. Bd. Ion Mihalache, no.11-13, sector 1, cod 011171 Bucuresti, Romania	Dr. Dragos-Mircea Median
SC Radiotherapy Center Cluj SRL, Oncologie Medicala Centrul medical de radioterapie si chimioterapie adulti si copii	Str. Razoare, nr.486G, com Floresti, jud. Cluj, Romania	Dr. Ioan-Catalin Iacob
Centrul de Oncologie Sf. Nectarie SRL	Str. Caracal, no.23A, Bl. 17A, parter+demisol, 200347 Craiova, Romania	Dr. Michael Schenker
Spitalul Judetean de Urgenta "Sf. Ioan Cel Nou" Suceava, Oncologie Medicala	B-dul 1 Decembrie 1918, no.21, 720237 Suceava, Romania	Dr. Doina-Elena Ganea

(b) Dimensiunea sitului (m²):

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

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

Neprecizată. Nu este cerută o dimensiune anume. Medicamentul va fi administrat în camere de spital obișnuite.

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

Nu este relevantă, deoarece acest produs medicamentos nu va fi răspândit.

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

Nu este relevant

4. Metoda de diseminare și amploarea acesteia

- (a) Cantitățile de OMG-uri care urmează a fi diseminate:
Fiecare flacon conține $\geq 1 \times 10^9$ UFC
- (b) Durata operațiunii:

ADXS11-001 administrat i.v. timp de aproximativ 60 de minute o dată la 3 săptămâni (numai în Săptămânile 1, 4 și 7) pentru 3 doze (Faza primară); ulterior subiecților li se va administra o doză suplimentară o dată la 8 săptămâni (Săptămânile 15, 23, 31, 39 și 47) pentru 5 doze (Faza de întreținere). Perioada totală de tratament va fi de aproximativ 1 an.

- (c) Metoda și procedurile de evitare și/sau de minimalizare a propagării OMG-urilor în afara sitului de diseminare

Axalimogene filolisc este transportată la centrul destinat în flacoane criogenice sigilate. Fiecare flacon este etichetat individual, cu identificarea conținutului și a cantității de material. Flacoanele sunt păstrate pe gheață carbonică sau în condiții de expediere echivalente, în interiorul unui recipient de expediere izolat. Recipientele de expediere sunt izolate pentru a preveni spargerea și dezghețarea flacoanelor. Pericolul principal la transportul acestor flacoane este legat de spargerea flaconului. Dacă un flacon este recepționat cu crăpături, este posibil ca produsul să se scurgă din flacon și să contamineze componentele de transport. Axalimogene filolisc este o tulpină *L. monocytogenes* atenuată, regăsită frecvent sub forma unei bacterii în sol. Produsul se îndepărtează ușor de pe suprafețe utilizând agenți de curățare antimicrobiană. Probabilitatea de spargere a flaconului este redusă, din mai multe motive. Produsul este expedit în recipiente de expediere izolate, concepute astfel încât să prevină spargerea flaconului. Detectarea spargerii flaconului poate fi făcută ușor, deoarece crăpăturile flaconului ar fi vizibile. Riscul de mediu provocat de spargerea flaconului este redus.

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

Utilizat în studii clinice

- 6. Informații relevante privind, după caz, diseminările anterioare ale aceluiași OMG, în special din punctul de vedere al impactului potențial al diseminării asupra mediului și asupra sănătății umane.

Produsul a fost eliberat pentru studii clinice în SUA cu numărul IND SUA 13712. Nu există niciun impact raportat asupra mediului și asupra sănătății umane.

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 ...
- (iv) specie ...

- (v) subspecie ...
- (vi) sușă ...
- (vii) cultivar/linie genealogică ...
- (viii) patovar ...
- (ix) denumire comună ...

2. Mecanismele anticipate și rezultatul interacțiunii dintre OMG-urile diseminate și organismul țintă (după caz)
Mecanismul de acțiune al axalimogene filolisbac este indicat mai jos.

- Infectarea și dezvoltarea intracelulară a tulpinii axalimogene filolisbac în celulele care prezintă antigen
- Exprimarea și procesarea antigenului tLLO-E7 în celulele care prezintă antigen prin intermediul mecanismului proteazomului celular
- Exprimarea peptidelor procesate pe structura de histocompatibilitate majoră de clasa I pe suprafața celulară a celulelor care prezintă antigen
- Generarea răspunsului imunitar adecvat pe baza prezentării antigenului și recunoașterea înrudirii

3. Orice alte interacțiuni potențial importante cu alte organisme din mediu
Niciuna, pe baza studiilor de răspândire efectuate cu axalimogene filolisbac

4. Este posibilă apariția unei selecții ulterioare diseminării, precum competitivitatea crescută sau o mai accentuată capacitate de proliferare a OMG-ului?

Da (.) Nu (x) Nu se știe (.)

Detaliați

Atenuarea cu 4-5 logaritmi a ADXS11-001 în cazul comparării cu *L. monocytogenes* de tip sălbatic indică faptul că, după toate probabilitățile, diseminarea de OMG nu va crește capacitatea de proliferare a acestei bacterii (Verch et al., 2004).

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

Este posibil ca bacteria să se poată propaga atât prin sol, cât și prin apă.

6. Denumirea completă a organismelor nevizate care (ținând seama de tipul mediului receptor) pot fi afectate în mod neintenționat și într-o măsură semnificativă de diseminarea 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 relevant

7. Probabilitatea de transfer genetic in vivo

(a) de la OMG la alte organisme din ecosistemul afectat de diseminare:

Nu a fost observată atunci când axalimogene filolisbac a fost cultivată împreună cu alte bacterii cum ar fi *E. coli* în absența antibioticului cloramfenicol. Transferul orizontal de plasmide, prin conjugare sau alte mijloace, la alte tulpini de *Listeria* nu a fost studiat. Probabilitatea de transfer genetic la alte bacterii sau celule eucariote este mică, datorită absenței mecanismelor de transfer genetic la nivelul axalimogene filolisbac.

(b) de la alte organisme la OMG:

Transferul de gene de la alți microbi la axalimogene filolisbac nu a fost studiat.

(c) consecințe probabile ale transferului de gene:

Nu este cazul, deoarece nu există date disponibile în acest sens.

8. Indicați rezultatele relevante (dacă există) ale studiilor cu privire la comportamentul și la caracteristicile OMG-ului și la impactul său ecologic, realizate în medii naturale simulate (de exemplu, microcosmosuri etc.):

Nu este cazul

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. Metodele de monitorizare a OMG-urilor

Faza de monitorizare a gestionării și a supravegherii axalimogene filolisbac va consta dintr-o schemă cu durată de 6 luni de administrare orală de trimetoprim/sulfametoxazol/ampicilină sau placebo corespunzător, obținând o probă de sânge pentru a monitoriza hemoleucograma (complete blood count, CBC), analize metabolice cuprinzătoare (complete metabolic panel, CMP) și VSH-ul, precum și culturi din probe de sânge, la intervale regulate. Această testare se va efectua la toți subiecții cărora li s-a administrat cel puțin o doză de tratament de studiu. Orice subiect căruia i se administrează cel puțin o doză de ADXS11-001 va fi urmărit și monitorizat din punct de vedere al siguranței, incluzând antibiotice post-tratament pe termen lung (6 luni) și supraveghere a siguranței pe termen lung. Tratamentul prelungit cu un antibiotic oral are scopul de a determina creșterea probabilității eradicării Lm. Se va efectua o vizită la centrul investigațional o dată la 3 luni (± 2 săptămâni) începând cu a treia lună de la ultima doză de tratament de studiu sau imediat în momentul întreruperii studiului, cu excepția cazului în care un subiect își retrage consimțământul, timp de 3 ani. Subiecților li se va administra prima doză de trimetoprim/sulfametoxazol, ampicilină sau placebo corespunzător, pe cale orală, la aproximativ 72 de ore de la ultima doză de tratament de studiu sau imediat după întreruperea studiului. Trimetoprim/sulfametoxazol va reprezenta medicamentul de primă alegere pentru toți subiecții, cu excepția cazului în care un subiect este intolerant sau alergic la acest medicament. În acest caz se va administra ampicilină. Doza de trimetoprim/sulfametoxazol constă dintr-un comprimat de 80 mg trimetoprim/400 mg sulfametoxazol administrat o dată pe zi timp de 7 zile consecutive. Doza de ampicilină constă din 500 mg de patru ori pe zi pe o perioadă de 7 zile consecutive. Se va consulta etichetarea

produsului aprobat pentru trimetoprim/sulfametoxazol sau ampicilină și se va monitoriza toleranța la antibiotic, deoarece pot fi necesare ajustări ale dozei.
Studiile clinice anterioare nu au demonstrat o răspândire a acestor bacterii.

2. Metode de monitorizare a efectelor asupra ecosistemului
Nu este cazul
3. Metode de detecție a transferului materialului genetic donat, de la OMG la alte organisme
Nu este relevant
4. Suprafața zonei monitorizate (m²)

Nu este cazul
5. Durata monitorizării
3 ani. A se vedea detaliile de la punctul H.1. de mai sus.
6. Frecvența monitorizării
O dată la trei luni. A se vedea detaliile de la punctul H.1. de mai sus.

I. Informații privind tratarea după diseminare și tratarea deșeurilor

1. Tratarea sitului după diseminare
Toate cantitățile de produs investigational vor fi eliminate în conformitate cu politicile instituției privind eliminarea deșeurilor biologice periculoase sau prin utilizarea etapelor de mai jos pentru ADXS11-001.
ADXS11-001 poate fi tratat cu o soluție de hipoclorit de sodiu / NaClO 0,5% / clorură de var pentru dezinfectare. Ca alternativă se poate utiliza o soluție de alcool izopropilic 70%.
Flaconul(flacoanele) nedeschis(e) sau deschis(e) și materialele reziduale ale preparatului i.v. vor fi tratate în conformitate cu cerințele centrului privind deșeurile biologice periculoase. Materialele care nu pot fi tratate ca materiale biologice periculoase trebuie dezinfectate cu o soluție de hipoclorit de sodiu (NaClO) 0,5% pentru dezinfectarea materialelor. Soluția diluată de clorură de var 10% nu trebuie să fie dăunătoare pentru un echipament de protecție, iar curățarea cu soluție de clorură de var trebuie urmată de curățarea cu alcool 70%. Dacă farmacia nu poate utiliza o soluție de clorură de var pentru dezinfectare, va trebui să trateze cantitățile vărsate accidental timp de 10 minute cu izopropanol 70%.
2. Tratarea OMG-urilor după diseminare
Tratament cu antibiotice pentru pacienți
3. (a) Tipul și cantitatea deșeurilor rezultate
Materiale biologice periculoase, un flacon / set de perfuzie i.v. de produs per pacient, per doză.
3. (b) Tratarea deșeurilor
Practicile standard de eliminare a deșeurilor biologice periculoase. Flaconul(flacoanele) nedeschis(e) sau deschis(e) și materialele reziduale ale preparatului i.v. vor fi tratate în conformitate cu cerințele centrului privind deșeurile biologice periculoase. Materialele care nu pot fi tratate ca materiale biologice

periculoase trebuie dezinfectate cu o soluție de hipoclorit de sodiu (NaClO) 0,5% pentru dezinfectarea materialelor. Soluția diluată de clorură de var 10% nu trebuie să fie dăunătoare pentru un echipament de protecție, iar curățarea cu soluție de clorură de var trebuie urmată de curățarea cu alcool 70%. Dacă farmacia nu poate utiliza o soluție de clorură de var pentru dezinfectare, va trebui să trateze cantitățile vărsate accidental timp de 10 minute cu izopropanol 70%.

J. Informații privind planurile de intervenție în caz de urgență

1. Metodele și procedeele de controlare a diseminării OMG-urilor în caz de propagare neprevăzută

Axalimogene filolisbac este transportată la centrul destinat în flacoane criogenice sigilate. Fiecare flacon este etichetat individual, cu identificarea conținutului și a cantității de material. Flacoanele sunt păstrate pe gheață carbonică sau în condiții de expediere echivalente, în interiorul unui recipient de expediere izolat. Recipientele de expediere sunt izolate pentru a preveni spargerea și dezghețarea flacoanelor. Pericolul principal la transportul acestor flacoane este legat de spargerea flaconului. Dacă un flacon este recepționat cu crăpături, este posibil ca produsul să se scurgă din flacon și să contamineze componentele de transport. Axalimogene filolisbac este o tulpină *L. monocytogenes* atenuată, regăsită frecvent sub forma unei bacterii în sol. Produsul se îndepărtează ușor de pe suprafețe utilizând agenți de curățare antimicrobiană. Probabilitatea de spargere a flaconului este redusă, din mai multe motive. Produsul este expedit în recipiente de expediere izolate, concepute astfel încât să prevină spargerea flaconului. Detectarea spargerii flaconului poate fi făcută ușor, deoarece crăpăturile flaconului ar fi vizibile. Riscul de mediu provocat de spargerea flaconului este redus.

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

În caz de vărsare sau de expunere accidentală la axalimogene filolisbac în timpul manipulării, personalul trebuie să ia măsurile recomandate mai jos.

Vărsări accidentale

Toate vărsările accidentale trebuie gestionate în conformitate cu procedurile privind siguranța aplicabile în cadrul centrului sau urmând recomandările de mai jos.

1. În cazul în care există o vărsare accidentală a axalimogene filolisbac, izolați zona și înștiințați persoanele din apropiere. Îmbrăcați echipamentul de protecție personală (EPP) adecvat dacă nu îl aveți deja îmbrăcat (de ex. îmbrăcăminte sau halat de laborator, mănuși și mască fără sigilare, cu protecție pentru ochi sau ochelari de protecție). Îndepărtați orice resturi de sticlă spartă sau cioburi și introduceți-le în recipientul pentru obiecte ascuțite.
2. Decontaminați zona de vărsare a axalimogene filolisbac punând prosoape de hârtie peste cantitatea vărsată. Saturați prosoapele de hârtie cu o soluție de hipoclorit de sodiu 0,5% (NaClO) și ștergeți cantitatea vărsată pornind de la exterior spre centru. Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu 0,5% (NaClO) să acționeze în zonă timp de aproximativ 10 minute. Eliminați prosoa-

pele de hârtie într-un recipient pentru deșeuri biologice periculoase. Eliminați toate materialele, inclusiv EPP în recipientul(ele) pentru materiale biologice periculoase desemnate.

Expunerea la axalimogene filolissbac

Toate incidentele de expunere trebuie gestionate în conformitate cu procedurile privind siguranța aplicabile în cadrul centrului sau urmând recomandările de mai jos.

1. În cazul expunerii accidentate îndepărtați și eliminați EPP sau îmbrăcămintea contaminat(ă) în recipientele pentru deșeuri biologice periculoase desemnate.
 - a. Pentru contaminarea la nivelul pielii: spălați bine zona respectivă, imediat, cu săpun și apă.
 - b. Pentru vătămarea prin înțepare cu acul: spălați bine zona afectată cu săpun și apă și acoperiți zona cu un pansament din tifon steril. Înștiințați IP, care va stabili măsurile medicale adecvate ce trebuie luate.
 - c. Pentru contaminare oculară: clătiți bine, imediat, zona afectată timp de până la 15 minute utilizând o soluție de spălare a ochilor; fluxul de apă trebuie să treacă peste ochiul afectat dinspre nas spre colțul exterior al ochiului. Dacă este contaminat un singur ochi, evitați contaminarea celuilalt ochi (poziționați capul astfel încât ochiul afectat să se afle dedesubtul celuilalt ochi).

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

Nu este cazul

4. **Planuri de protecție a sănătății umane și a mediului în cazul apariției unor efecte nedorite**

Pacienții cărora li se administrează tratament cu acest produs vor fi monitorizați din punct de vedere al apariției evenimentelor adverse și a evenimentelor adverse grave (EAG) conform protocolului clinic. Fiecare EAG va fi înregistrat și analizat de personalul spitalului și de sponsorul studiului, iar autoritățile medicale vor fi înștiințate, după caz.

Fiecare pacient cărui i se administrează OMG-ul va primi un stoc de trimetoprim/sulfametoxazol, ampicilină pentru 7 zile, care va fi luat începând de la aproximativ 72 de ore de la finalizarea administrării tratamentului de studiu, pentru a elimina bacteria *Listeria* din organismul pacientului.

În caz de vărsări accidentale se vor respecta procedurile descrise la secțiunea J.1 de mai sus, în vederea protejării mediului.