

## Příloha č. 1

### Výsledek hodnocení rizika -

V klinickém hodnocení s GMO PROSTVAC –V; POSTVAC - F  
pro pracoviště:

- Kroměřížská nemocnice, Kroměříž; Havlíčkova 660; 767 55 Kroměříž
- Masarykův onkologický ústav, Brno; Žlutý kopec 7; 656 53 Brno
- Fakultní nemocnice Olomouc ; I.P.Pavlova 6; 775 20 Olomouc
- Nemocnice Jindřichův Hradec; U Nemocnice 380/III; 377 38 Jindřichův Hradec
- Urologické oddělení, Fakultní Thomayerova Nemocnice; Vídeňská 800; 140 59 Praha
- Nemocnice Pelhřimov; Slovanského bratrství 710; 393 01 Pelhřimov
- ROHELP; Božetěchova 79; 612 00 Brno

### Způsob nakládání s GMO

Kontakt GMO s člověkem (ošetřujícím personálem a personálem lékáren připravujícím vakcíny k použití) je omezen na nejmenší možnou míru. Nakládání s GMO v tomto klinickém hodnocení je zcela bezpečné a nepředstavuje žádné prokazatelné riziko pro osoby, které s ním nakládají a stejně tak nepředstavuje žádné prokazatelné, ani předpokladatelné riziko pro životní prostředí.

Z metodického hlediska se jedná o následující pracovní postupy:

- Příprava vakcíny k aplikaci
- Aplikace vakcíny

### Obecné poznámky:

Randomizované kontrolované klinické hodnocení fáze 2 podávání přípravku PROSTVAC již prokázalo prodloužení života u mužů s metastatickým karcinomem prostaty bez efektu kastrace.

PROSTVAC-V/F je produkt vyvíjené vakcíny založené na živém, oslabeném virovém vektoru, jenž se skládá ze dvou komponentních virových vektorů, které jsou určené ke společnému použití v režimu prime/boost vakcinace:

- **PROSTVAC-V:** Rekombinantní virus kravských neštovic, který koexprimuje gen lidského prostatického specifického antigenu (PSA) a geny, které kódují tři lidské imunologické kostimulační molekuly: B7.1, mezibuněčnou adhezivní molekulu-1 (ICAM-1) a leukocytární funkční antigen-3 (LFA-3) (označují se jako TRIad of COstimulatory Molecules, tj. triáda kostimulačních molekul neboli **TRICOM<sup>TM</sup>**).

Gen PSA, který je v těchto rekombinacích použit, vykazuje změnu specifického epitopu lidského leukocytárního antigenu-A2 (HLA-A2) (náhrada isoleucinu leucinem na pozici aminokyseliny 155; označen L155).

- **PROSTVAC-F:** Rekombinantní virus ptačích neštovic, který koexprimuje stejné čtyři geny jako PROSTVAC-V.

PROSTVAC-V/F se v současné době vyvíjí jako prostředek léčby metastatické rakoviny prostaty rezistentní vůči kastraci (mCRPC).

Viry kravských a ptačích neštovic jsou obalené viry, které podléhají působení čistících prostředků a dezinfekčních činidel. Kontaminované materiály, které přišly do styku s GMO, budou vloženy do bezpečnostních obalů pro zvláště nebezpečný biologický odpad, označených nápisem GMO a odborně zlikvidovány dle SOP pro zacházení se zvláště nebezpečným biologickým odpadem zúčastněného klinického pracoviště, jak je specifikováno v Provozním řádu. Povrchy, které se dostaly do styku s GMO obsahujícím virus kravských neštovic, budou okamžitě desinfikovány vhodným dezinfekčním činidlem (SAVO, SEKUSEPT active) a materiály použité k desinfekci budou likvidovány dle zásad manipulace se zvláště nebezpečným biologickým a GMO odpadem, jak je běžně prováděno na pracovišti. Zasažená místa na kůži budou důkladně očištěna standardními čistícími prostředky, které jsou vhodné pro mytí rukou (SEKUSEPT active).

Při přímém kontaktu by mohlo potenciálně dojít k nahodilému úniku látky. Centra pro kontrolu nemocí (CDC) uvedla v přehledu o vakcinacích proti neštovicím z deseti států, že riziko přenosu při kontaktu odpovídalo 27 infekcím na milión vakcinací, a že 44 % z nich se týkalo dětí mladších pěti let. Proto má kritický význam uplatňování opatření péče o místo podání injekce, která zahrnují překrytí místa obvazem, jeho zakrytí vrstvou oděvu (např. dlouhé kalhoty nebo rukávy), subkutánní injekce (spíše než dermální skarifikace) a pečlivé mytí rukou. Vakcína se nebude podávat subjektům, které jsou primárními pečovateli o děti ve věku  $\leq 3$  roky.

PROSTVAC-F se v lidských buňkách nereplikuje, proto je riziko horizontálního přenosu mimořádně nízké. Toto riziko lze ještě více zmírnit uplatňováním standardních opatření biologické bezpečnosti, například opatření, která se uplatňují při zacházení s lidskou krví nebo tkáňovými vzorky. Dále je třeba poznamenat, že na základě rozsáhlých klinických zkušeností s příbuznými virovými vakcínami nebyl horizontální přenos hlášen.

Mezi dárcovským organismem (*Homo sapiens*) a organismem příjemců (virus kravských a ptačích neštovic) k žádné přirozené výměně genetického materiálu nedochází. Životní cyklus viru neštovic probíhá v cytoplazmě (Moss, 1996); viry neštovic se neintegrují do genomu infikované buňky. Vzhledem k fyzikálnímu oddělení lidského genomu a genomu viru je přirozená výměna genetického materiálu mezi dárce a příjemcem nepravděpodobná. Pokud jde o virus ptačích neštovic, je výskyt jakékoliv takové genetické výměny rovněž vyloučen vzhledem k chybějící schopnosti replikace viru ptačích neštovic u savčích druhů.

Podávání PROSTVAC-V/F bude probíhat pouze ve vybraných klinických centrech, v chráněném režimu podávání v souladu s Oznámením; riziko úniku vakcíny do životního prostředí se tudíž nepředpokládá. Dále platí, že PROSTVAC-V ani PROSTVAC-F nejsou schopny infikovat mikroby či rostliny.

Zamýšleným výsledkem genetické modifikace bylo získat rekombinantní viry kravských a ptačích neštovic, které by byly užitečné při léčbě rakoviny prostaty. PROSTVAC-V a PROSTVAC-F jsou terapeutické vakcíny, které byly navrženy tak, aby dodávaly antigen PSA související s nádorem do buněk prezentujících antigen (APC), kde poté dochází k jeho zpracování a expresi na povrchu APC v rámci hlavního histokompatibilního komplexu (MHC), což vede k aktivaci T-buněk ([Essajee, 2004](#); [Schlom, 2008](#)). Za účelem posílení imunogenicity exprimovaného PSA exprimují PROSTVAC-V a PROSTVAC-F také tři lidské kostimulační molekuly označované jako TRICOM. Vakcinace pomocí PROSTVAC-V vede v infikovaných buňkách k současné expresi epitopů PSA v kombinaci s kostimulačními molekulami. Předpokládá se, že koexprese PSA v kontextu molekul TRICOM posiluje imunitní odpověď T-buněk na PSA. Tyto imunitní odpovědi na PSA jsou poté posíleny vícečetnými imunizacemi pomocí příslušného rekombinantního viru ptačích neštovic, PROSTVAC-F.

**Rekombinantní viry kravských a ptačích neštovic jsou v současné době komerčně dostupné a v životním prostředí jsou široce distribuovány jako veterinární vakcíny** ([Meeusen 2007](#)).

**Při práci s těmito vakcínami není riziko vyšší než při práci s jakoukoli jinou geneticky neupravenou vakcínou, za zachování zásad správné manipulace s vakcinační látkou, jak je blíže specifikováno v Provozním řádu klinického pracoviště (příloha Oznámení). Při zacházení s vakcínou představuje určité riziko pouze možnost potřísnění v případě rozbití ampule nebo poranění při aplikaci vakcíny, což však nesouvisí s genetickou modifikací GMO.**

### **Vyhodnocení rizika pro PROSTVAC-V**

Rodičovský virus kravských neštovic, který byl použit pro vytvoření PROSTVAC-V, byl získán z plakového izolátu (označeného TBC-Wy) z očkovacího roztoku viru, který použila společnost Wyeth Pharmaceuticals k výrobě licencované vakcíny Dryvax<sup>®</sup> proti neštovicím. Tato vakcína představuje kmen New York City Board of Health (NYCBH), s nímž je spojován nejnižší výskyt klinických komplikací po imunizaci ([Fenner, 1988](#)). TBC-Wy i PROSTVAC-V jsou značně více oslabené než Dryvax, měřeno na základě zkoušky neurovirulence u hlodavců. Tyto výsledky ukazují, že vložení cizích sekvencí do TBC-Wy nezvyšuje virulenci výsledného rekombinantního viru.

Virus kravských neštovic se používá již déle než 200 let jako vakcína proti neštovicím a jeho profil bezpečnosti je dobře znám.

Replikace viru kravských neštovic *in vivo* je omezena na určité hostitele z řad teplokrevných obratlovců včetně člověka a živočišných druhů, jako je dobytek, kočky, hlodavci, králíci a

prasata. Nebylo popsáno, že by se uvedený virus přirozeně vyskytoval u člověka, a také nemá žádný známý rezervoár u zvířat.

Virus kravských neštovic vyvolává přechodnou infekci, přičemž k eliminaci virových komponent dochází v průběhu několika týdnů. Hostitelské buňky infikované virem kravských neštovic přežívají krátce (dny) a odumírají smíšenou formou apoptózy / nekrózy. Virus kravských neštovic se replikuje v cytoplazmě infikovaných buněk. Virová DNA se neintegruje do DNA hostitelské buňky - virus tedy není schopen transformovat nebo stabilně geneticky modifikovat DNA recipientního organismu, který infikuje.

### **Hodnocení rizika - PROSTVAC V :**

#### Odstavec (1)

- a) přímé – primární působení na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí, které je přímo spojeno s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem. **Nepředpokládá se žádné přímé působení GMO na zdraví lidí, zvířat, rostlin nebo životní prostředí.**
- b) nepřímé – působení na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí, které nastává příčinným sledem událostí, například prostřednictvím interakce s jinými organismy, přenosem dědičného materiálu nebo změnami ve způsobu nakládání; nepřímé účinky se přitom mohou projevit i se zpožděním. **Nepředpokládá se žádná interakce s jinými organismy nebo životním prostředím a to ani v případě kontaminace nebo havárie.**
- c) okamžité – takové, které jsou pozorovány během nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem; okamžité účinky mohou být přímé i nepřímé. **V případě havárie hrozí stejná rizika jako při práci s geneticky nemodifikovanými organismy obdobného typu.**
- d) opožděné – takové, které nemusí být pozorovány v průběhu nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem, ale mohou být zjištěny jako přímé nebo nepřímé účinky po ukončení nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem. **Nepředpokládá se**
- e) kumulativní dlouhodobé účinky – souhrnné účinky nakládání s geneticky modifikovanými organismy nebo genetickými produkty na zdraví lidí, zvířata, rostliny a životní prostředí. **Nepředpokládají se žádné kumulativní dlouhodobé účinky.**

#### Odstavec (2)

- (2) Škodlivé účinky na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí mohou nastat
- a) usídlením nebo rozšířením geneticky modifikovaného organismu v prostředí, například jeho vlivem na dynamiku populací druhů v přijímajícím životním prostředí anebo genetickou rozmanitost některé z nich. **Nepředpokládá se jakékoli působení na životní prostředí.**
- b) přirozeným přenosem vloženého dědičného materiálu na jiné organismy, který může mít za následek například omezení možností profylaxe nebo léčby v oblasti lékařské, veterinární nebo rostlinolékařské, například přenosem genů zvyšujících patogenitu, virulenci nebo toxigenitu organismů nebo přenosem genů způsobujících rezistenci k antibiotikům používaným v lékařství nebo veterinární medicíně. **Nepředpokládá se.**

- c) fenotypovou nebo genetickou nestabilitou geneticky modifikovaného organismu. **Uvažované GMO jsou geneticky stabilní.**
- d) interakcí geneticky modifikovaného organismu s jinými organismy. **Nepředpokládá se.**
- e) rozdíly mezi nakládáním s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem a nakládáním s příjemcem, popřípadě rodičovským organismem, včetně případných rozdílných agrotechnických postupů, které mohou vést k odlišnostem v biochemických procesech v půdě, jako jsou rozklad organických látek a oběh uhlíku a dusíku. **Irelevantní.**

Odstavec (3) Hodnocení rizika ve spojení s:

- a) příjemcem: **nulové.**
- b) vloženým dědičným materiálem: **vložení cizích sekvencí lidského původu do vektoru nezvyšuje virulenci výsledného rekombinatního viru.**
- c) vektorem: **nulové, vektory nekódují žádné sekvence, které by představovaly jakékoliv riziko pro příjemce nebo životní prostředí.**
- d) dárcovským organismem: **nulové.**
- e) vložením konstruktů. **Nulové; pro přípravu vakcín je použita standardní technika transientní transfekce tkáňové kultury in vitro, která je využívána v procesu výroby vakcíny – není tudíž relevantní pro předkládané Oznámení.**
- f) signálními a selekčními geny: **standardní riziko spojené s uzavřeným nakládáním s GMO dle kategorie rizika stanoveného pro laboratoř výrobce vakcíny – není relevantní pro předkládané Oznámení**
- g) insertem: **viz vložený dědičný materiál**
- h) –
- i) výsledným GMO: **zanedbatelné, k virovému šíření dochází přechodně v místě vakcinace, která je pro zvýšení bezpečnostního profilu zacházení s GMO aplikována subkutánně**
- j) místem a rozsahem nakládání: **standardní (možnost náhodné kontaminace při zacházení s GMO, viz Havarijní plán).**
- k) životním prostředím: **neočekává se.**
- l) interakcemi GMO s životním prostředím v místě nakládání: **neočekává se.**

Celkové vyhodnocení pro PROSTAVAC-V:

### **Vyhodnocení rizika pro PROSTVAC-F:**

Rodičovský virus ptačích neštovic, který byl použit pro vytvoření PROSTVAC-F, označený TBC-FPV, představoval plakový izolát z vakcinačního kmene FPV (POXVAC-TC®) upraveného pomocí tkáňové kultury. POXVAC-TC je vakcína určená pro drůbež na základě licence USDA, kterou vyrábí Schering-Plough Corporation. Na základě používání POXVAC-TC nebyly hlášeny žádné nepříznivé účinky na životní prostředí, jiné ptačí druhy ani osoby zacházející se zvířaty.

V rámci zkoušky neurovirulence u hlodavců jsou TBC-FPV i PROSTVAC-F významně více oslabené než vakcína Dryvax proti neštovicím. Pokud jde o toxigenicitu a alergenicitu, ve studiích bezpečnosti na hlodavcích či u non-humánních primátů nebyly zaznamenány žádné biologicky významné změny ani známky nepříznivých toxikologických účinků.

PROSTVAC-F byl v minulosti podán více než 300 subjektům v osmi klinických hodnoceních fáze 1 a 2, přičemž biologický profil vakcíny byl v těchto studiích zcela bezpečný.

Zástupci Avipoxvirus (APV) se nacházejí na celém světě. Škála hostitelů APV je omezena *in vivo* na určité ptačí druhy. Rodičovský virus ptačích neštovic, který byl použit k získání PROSTVAC-F, je nevirulentní vakcinační kmen.

### **Hodnocení rizika pro PROSTAVAC-F:**

#### Odstavec (1)

- a) přímé – primární působení na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí, které je přímo spojeno s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem. **Nepředpokládá se žádné přímé působení GMO na zdraví lidí, zvířat, rostlin nebo životní prostředí.**
- b) nepřímé – působení na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí, které nastává příčinným sledem událostí, například prostřednictvím interakce s jinými organismy, přenosem dědičného materiálu nebo změnami ve způsobu nakládání; nepřímé účinky se přitom mohou projevit i se zpožděním. **Nepředpokládá se žádná interakce s jinými organismy nebo životním prostředím a to ani v případě kontaminace nebo nehody.**
- c) okamžité – takové, které jsou pozorovány během nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem; okamžité účinky mohou být přímé i nepřímé. **V případě havárie hrozí stejná rizika jako při práci s geneticky nemodifikovanými organismy obdobného typu.**
- f) opožděné – takové, které nemusí být pozorovány v průběhu nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem, ale mohou být zjištěny jako přímé nebo nepřímé účinky po ukončení nakládání s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem. **Nepředpokládá se.**
- g) kumulativní dlouhodobé účinky – souhrnné účinky nakládání s geneticky modifikovanými organismy nebo genetickými produkty na zdraví lidí, zvířata, rostliny a životní prostředí. **Nepředpokládají se žádné kumulativní dlouhodobé účinky.**

#### Odstavec (2)

- (2) Škodlivé účinky na zdraví lidí, zvířata, rostliny nebo životní prostředí mohou nastat
- a) usídlením nebo rozšířením geneticky modifikovaného organismu v prostředí, například jeho vlivem na dynamiku populací druhů v přijímajícím životním prostředí anebo genetickou rozmanitost některé z nich. **Nepředpokládá se jakékoli působení na životní prostředí.**
  - b) přirozeným přenosem vloženého dědičného materiálu na jiné organismy, který může mít za následek například omezení možností profylaxe nebo léčby v oblasti lékařské, veterinární nebo rostlinolékařské, například přenosem genů zvyšujících patogenitu, virulenci nebo toxigenitu organismů nebo přenosem genů způsobujících rezistenci k antibiotikům používaným v lékařství nebo veterinární medicíně. **Nepředpokládá se.**
  - c) fenotypovou nebo genetickou nestabilitou geneticky modifikovaného organismu. **Uvažované GMO jsou geneticky stabilní.**
  - d) interakcí geneticky modifikovaného organismu s jinými organismy. **Neuvažuje se.**

- e) rozdíly mezi nakládáním s geneticky modifikovaným organismem nebo genetickým produktem a nakládáním s příjemcem, popřípadě rodičovským organismem, včetně případných rozdílných agrotechnických postupů, které mohou vést k odlišnostem v biochemických procesech v půdě, jako jsou rozklad organických látek a oběh uhlíku a dusíku. **Irelevantní.**

Odstavec (3) Hodnocení rizika ve spojení s:

- a) příjemcem: **nulové.**  
b) vloženým dědičným materiálem: **vložení cizích sekvencí lidského původu do vektoru nezvyšuje virulenci výsledného rekombinatního viru.**  
c) vektorem: **nulové, vektory nekódují žádné sekvence, které by představovaly jakékoliv riziko pro příjemce nebo životní prostředí.**  
d) dárcovským organismem: **nulové.**  
e) vložením konstruktů. **Nulové; pro přípravu vakcín je použita standardní technika transienční transfekce tkáňové kultury in vitro, která je využívána v procesu výroby vakcíny – není tudíž relevantní pro předkládané Oznámení.**  
f) signálními a selekčními geny: **standardní riziko spojené s uzavřeným nakládáním s GMO dle kategorie rizika stanoveného pro laboratoř výrobce vakcíny – není relevantní pro předkládané Oznámení**  
g) insertem: **viz vložený dědičný materiál**  
h) –  
i) výsledným GMO: **zanedbatelné, k virovému šíření dochází přechodně v místě vakcinace, která je pro zvýšení bezpečnostního profilu zacházení s GMO aplikována subkutánně**  
j) místem a rozsahem nakládání: **standardní (možnost náhodné kontaminace při zacházení s GMO, viz Havarijní plán).**  
k) životním prostředím: **neočekává se.**  
l) interakcemi GMO s životním prostředím v místě nakládání: **neočekává se.**

**Hodnocení rizika vypracoval:**

MUDr. Ivana Kodatová  
(specialista pro klinické studie, PPD Czech Republic, s.r.o.)

Vyjádření odborného poradce pro práci s GMO: souhlasím se zněním Hodnocení rizika

.....  
MUDr. Soňa Peková, Ph.D.  
(odborný poradce pro práci s GMO)

.....  
Datum