

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España (ES)
b) Número de la notificación:	B/ES/20/25
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	19/10/2020
d) Título del proyecto:	Un estudio de fase II, aleatorizado, controlado y de etiqueta abierta sobre Cemiplimab como agente en monoterapia y en combinación con RP1 en pacientes con carcinoma epinocelular avanzado
e) Período propuesto para la liberación:	Desde enero de 2021 hasta enero de 2023

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	<u>Promotor</u> Replimune Inc. 500 Unicorn Park, 3rd Floor Woburn, MA EE.UU 01801
-------------------------------------	--

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>

- mamíferos
- insectos
- peces
- otro animal especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Grupo: ADN de doble hebra; Género: virus simplex

Especie: RP1 es un virus recombinante de la cepa RH018 del virus del herpes simplex de tipo silvestre (VHS-1) con delección de los genes ICP34.5 (ambas copias) e ICP47, y con hGM-CSF y GALV-GP-R insertado en lugar de los genes eliminados ICP34.5.

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:

No se prevé que las modificaciones realizadas en el genoma del VHS-1 para obtener RP1 provoquen un genotipo inestable. El genoma del inóculo maestro del virus (MVSS) RP1 se ha secuenciado en su totalidad usando un enfoque de secuenciación de próxima generación, y las regiones modificadas o insertadas también se han secuenciado usando estándares de buenas prácticas de laboratorio con un enfoque de secuenciación mediante PCR y secuenciación Sanger. La secuenciación confirmó la delección de los genes ICP47 y ICP34.5, y la presencia de los genes GALV-R- y hGM-CSF con la secuencia esperada dentro del genoma de RP1. Esto demostró que se habían insertado las secuencias correctas y que el genotipo era estable en comparación con el constructo viral inicial (es decir, la versión no MVSS) que se había preparado.

Además, se usó el MVSS de RP1 para generar dos lotes consecutivos y la secuencia del genoma completo del segundo lote producido secuencialmente (equivalente a un lote de postproducción) procedente del MVSS de RP1 se obtuvo por secuenciación de próxima generación. No se encontró ninguna diferencia, lo que confirmó que el genotipo era estable. Como la PCR es el método más sensible y específico de diagnosticar la infección por VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS-1 (Whitley et al, 1998), cada lote clínico se somete a un test de identidad mediante qPCR para confirmar la presencia del inserto GALV-R-/hGM-CSF.

RP1 utiliza el vector viral VHS-1 con modificaciones de transgenes que le permiten replicarse selectivamente en el tejido tumoral humano y con delecciones bien caracterizadas (es decir, delección de ICP34.5) que hacen que el virus no sea patogénico. Tras evaluar las características de RP1 y su potencial para provocar efectos adversos a personas o el medioambiente, así como las medidas de gestión del riesgo biológico que se aplican para reducir aún más cualquier posible exposición, se puede concluir que el riesgo general que RP1 constituye para las personas y el medioambiente es de Bajo a Insignificante.

Teniendo en cuenta el perfil de seguridad enormemente mejorado de RP1 en comparación con el VHS-1 de tipo silvestre, la evaluación realizada por Replimune para RP1 clasifica a este OMG en el Grupo de Riesgo 1, ya que la delección de ICP34.5 implica que RP1 no es patogénico y su replicación se realiza selectivamente en el tumor. De acuerdo con la Directiva 2000/54/CE de la UE, un agente biológico del Grupo de Riesgo 1 se define como «agente biológico del grupo 1 implica un agente con baja probabilidad de provocar enfermedad en humanos». Replimune cree que es apropiado clasificar RP1 en el Grupo de Riesgo 1, ya que hay poca probabilidad de que provoque enfermedad en humanos.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: DE, EL, FR, PL	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
<ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: DE (presentado ante organismo normativo, en revisión para su liberación intencional); FR (utilización confinada, aceptada) - Número de la notificación: DE (número de solicitud 4222/01); FR (EudraCT 2018-003964-30, DUO No. 6658) 	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
<ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: US, Australia, RU, Canadá - Número de la notificación: US (IND 17922); Australia (CT-2019-CTN-02844-1); RU (EudraCT 2016-004548-12, 46616/0001/001-0001; EudraCT 2018-003964-30, 50765/0004/001-0001); Canadá (control n.º 243482) 	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

El impacto medioambiental del OMG es menor: Al igual que el VHS-1 de tipo silvestre, RP1 no sobrevive mucho tiempo fuera del huésped. Es un virus con cubierta que es sensible tanto a la inactivación física como a los desinfectantes. La reversión al tipo silvestre en el entorno no es posible, ya que el virus necesita estar dentro de las células humanas. La competencia con el VHS-1 de tipo silvestre u otras especies en el medioambiente no es posible, ya que el virus necesita estar dentro de las células humanas para replicarse. RP1 se utilizará en centros médicos bajo un control estrecho. El lugar de inyección se cubrirá con un apósito. Existen procedimientos implantados para la gestión y eliminación de los residuos cuyo objetivo es impedir la diseminación.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifiquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Herpesvirales
ii) Género: Simplexvirus
iii) Especie: Virus del herpes simple tipo 1

iv) Subespecie:
v) Cepa: RH018
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: VHS-1

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí <input checked="" type="checkbox"/>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico <input checked="" type="checkbox"/>	
Mediterráneo <input type="checkbox"/>	
Boreal <input type="checkbox"/>	
Alpino <input type="checkbox"/>	
Continental <input type="checkbox"/>	
Macaronésico <input type="checkbox"/>	
ii) No <input type="checkbox"/>	
iii) No se sabe <input type="checkbox"/>	
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua <input type="checkbox"/>	
Suelo, en libertad <input type="checkbox"/>	

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense):	
<p>El único hábitat natural conocido para el VHS-1 de tipo silvestre es el ser humano, pero los primates no humanos en cautividad se pueden infectar accidentalmente. Es posible infectar a conejos y roedores de forma experimental. No se tiene conocimiento de que el VHS-1 tenga capacidad zoonótica y las infecciones entre especies provocadas por herpesvirus son infrecuentes. La zoonosis ocurre de forma natural con mayor frecuencia entre especies huésped estrechamente relacionadas, pero también se puede encontrar transmisión de agentes infecciosos allí donde las barreras a la transmisión son inherentemente pequeñas o se han reducido de forma artificial (Tischer, 2010).</p>	
<p>El VHS-1 no infecta especies acuáticas (plantas, invertebrados y vertebrados) ni terrestres (plantas e invertebrados).</p>	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	
No procede	

5. a) Técnicas de detección

<p>La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es el método más sensible y específico para diagnosticar la infección de VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS-1; Whitley, et al, 1998).</p>

5. b) Técnicas de identificación

<p>Remítase a la sección B.5(a). La PCR es el método más sensible para identificar el VHS-1.</p>
--

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese:</p> <p>De acuerdo con la Directiva 2000/54/CE de la Unión Europea (UE), el VHS-1 de tipo silvestre está clasificado en el Grupo de Riesgo 2. La directiva establece que un agente biológico del Grupo de Riesgo 2 es «un agente biológico que puede provocar enfermedad en humanos y puede constituir un riesgo para los trabajadores; es poco probable que se propague entre la población general; suele disponerse de profilaxis o tratamiento efectivos».</p>	

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input checked="" type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE. La patogenicidad del VHS-1 de tipo silvestre se describe en la Table 1 .		

Table 1. Patogenicidad del VHS-1

Patogenicidad	Descripción
Herpes labial/calentura	La primoinfección con VHS-1 se suele adquirir en la niñez y puede ser asintomática o subclínica (Jerome, 2007 ; Kimberlin, 2005). Las primoinfecciones sintomáticas cursan principalmente como gingivoestomatitis, con fiebre, dolor de garganta, halitosis, anorexia, adenopatía cervical y edema en la mucosa, así como lesiones dolorosas vesicales y ulcerosas en la mucosa bucal, lengua, encías y faringe (Jerome, 2007 ; Kimberlin, 2005 ; Miller, 2007). Las úlceras se resuelven sin dejar cicatriz en el plazo de 2-3 semanas (Jerome, 2007). Las infecciones recurrentes suelen presentar síntomas y un curso clínico más leves (Jerome, 2007). Las lesiones recurrentes por VHS-1 presentan en una zona específica del labio (borde el bermellón del labio) y se denominan «calenturas» o «herpes labial» (Kimberlin, 2005). Las lesiones se resuelven en aproximadamente 8-10 días (Kimberlin, 2005).
Panadizo herpético	Caracterizado por la formación de lesiones vesicales dolorosas en la uña o la zona de los dedos.
Infecciones en ojos	Aparece una ulceración dendrítica característica en la conjuntiva y la córnea. La infección con VHS puede provocar otras enfermedades oculares, como blefaritis/dermatitis, conjuntivitis, queratitis epitelial dendrítica y ulceración de la córnea (Green, 2006).
Encefalitis	Infecciones graves del SNC, que afectan tanto a niños como a adolescentes (Whitley, 2006). Pueden

Patogenicidad	Descripción
	deberse a infección primaria o latente con el virus VHS-1 (Whitley, 2006). La encefalitis provocada por VHS afecta a un lóbulo temporal y conlleva signos neurológicos y edema. La enfermedad puede ser mortal (tasa de mortalidad del 70 %), si no se trata (Whitley, 2006).
Herpes genital	Se trata de una enfermedad de transmisión sexual. El herpes genital está provocado principalmente por el virus VHS-2, aunque en los países desarrollados, el VHS-1 se ha vuelto tan común como el VHS-2 en las infecciones genitales primarias. El herpes genital primario se caracteriza por la presencia de úlceras genitales múltiples, bilaterales, dolorosas y extensas, que se resuelven sin dejar cicatriz en un plazo de 12 días. Los pacientes también presentan con ganglios linfáticos agrandados, fiebre, malestar y mialgia. En casos infrecuentes, esta enfermedad también puede causar meningitis aséptica con rigidez en el cuello y dolor de cabeza grave. La enfermedad herpética genital recurrente es de menor duración, más leve y carente de síntomas sistémicos. La principal manifestación de la enfermedad es parestesia prodrómica en el perineo, los genitales o las nalgas, seguida por formación de lesiones agrupadas en la zona de los genitales externos. Las lesiones se resuelven sin dejar cicatriz en 2-5 días.
Herpes neonatal	El herpes neonatal es una enfermedad extremadamente grave con una tasa de mortalidad muy alta. Los recién nacidos que sobreviven a la infección pueden presentar complicaciones neurológicas. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad varían y se pueden clasificar en tres grupos: enfermedad diseminada, que compromete múltiples órganos, como pulmones, hígado, glándulas suprarrenales, piel, ojos y cerebro (25%); enfermedad del SNC con apatía y convulsiones (~ 30 % de los casos totales, incluido entre el 60 y el 75 % de los casos que presentan enfermedad diseminada); y enfermedad limitada a la piel, ojos y/o boca (45 %) (Kimberlin, 2005).

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El VHS-1 no persiste en los ecosistemas naturales, ya que depende de su organismo huésped para la replicación asexual, donde presenta un ciclo reproductivo corto de ~ entre 18 y 20 horas (Kukhanova, 2014). El único reservorio natural es el ser humano (Jerome, 2007) y la infección no humana es infrecuente. Además, no se tiene conocimiento de que el VHS-1 de tipo silvestre

sea zoonótico.	
<p>b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:</p> <p>El VHS-1 de tipo silvestre es conocido por ser un patógeno humano que depende de su organismo huésped para la replicación asexual en un ciclo de reproducción corto de ~ entre 18 y 20 horas (Kukhanova, 2014) y no se tiene conocimiento de que infecte especies acuáticas (plantas, invertebrados y vertebrados) o terrestres (plantas e invertebrados). Esto reitera la idea de que el único reservorio natural del VHS-1 es humano (Jerome, 2007) y que la infección no humana es infrecuente. La zoonosis ocurre de forma natural con mayor frecuencia entre especies huésped estrechamente relacionadas, pero también se puede encontrar transmisión de agentes infecciosos allí donde las barreras a la transmisión son inherentemente pequeñas o se han reducido de forma artificial (Tischer, 2010). No se tiene conocimiento de que el VHS-1 tenga capacidad para la zoonosis y es raro que los herpesvirus provoquen infecciones en otras especies.</p>	
<p>c) Modo de reproducción</p> <p style="text-align: center;">Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/></p>	
<p>d) Factores que afectan a la reproducción:</p> <p>El VHS-1 de tipo silvestre, es extremadamente susceptible a la deshidratación, y se inactiva fácilmente fuera de su huésped (Baldo, 2013).</p> <p>El VHS-1 es un virus con cubierta que es sensible tanto a la inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) como a los desinfectantes (solventes lipídicos y detergentes suaves), que lo inactivan de forma rápida. El virus VHS de tipo silvestre se inactiva fácilmente fuera de su huésped con una exposición a pH < 4, temperaturas > 56 °C durante 30 minutos, pasterización (60 °C durante 10 horas), y calentamiento mediante microondas durante 4 minutos (Croughan 1988). En cuanto a los desinfectantes, el virus VHS se puede inactivar con Lysol al 0,5 % en 5 minutos; Listerine (mezclas 1:1) en 5 minutos; 2000 ppm (2000 µl/l) de lejía en 10 minutos; y alcohol (mezclas 1:1) (Croughan, 1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998). La mayoría de los herpesvirus también son sensibles a etanol e isopropanol al 30 %, fenol ortofenílico al 0,12 % y glutaraldehído al 0,04 % (Prince, 2001).</p> <p>Los fármacos antivirales, como aciclovir, foscarnet, valaciclovir, famciclovir y penciclovir, pueden inhibir la replicación vírica. Foscarnet se utiliza en casos de VHS resistentes al aciclovir (Jerome, 2007).</p>	

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
i) endosporas	<input type="checkbox"/>
ii) quistes	<input type="checkbox"/>
iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>

iv)	esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
v)	esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
vi)	huevos	<input type="checkbox"/>
vii)	pupas	<input type="checkbox"/>
viii)	larvas	<input type="checkbox"/>
ix)	otras (especifiquense): Esta sección no procede	

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El VHS-1 es un virus con cubierta que es sensible tanto a la inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) como a los desinfectantes (solventes lipídicos y detergentes suaves), que lo inactivan de forma rápida. El virus VHS de tipo silvestre se inactiva fácilmente fuera de su huésped con una exposición a pH < 4, temperaturas > 56 °C durante 30 minutos, pasterización (60 °C durante 10 horas), y calentamiento mediante microondas durante 4 minutos (Croughan 1988). En cuanto a los desinfectantes, el virus VHS se puede inactivar con Lysol al 0,5 % en 5 minutos; Listerine (mezclas 1:1) en 5 minutos; 2000 ppm (2000 µl/l) de lejía en 10 minutos; y alcohol (mezclas 1:1) (Croughan, 1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998). La mayoría de los herpesvirus también son sensibles a etanol e isopropanol al 30 %, fenol ortofenílico al 0,12 % y glutaraldehído al 0,04 % (Prince, 2001).

Los fármacos antivirales, como aciclovir, foscarnet, valaciclovir, famciclovir y penciclovir, pueden inhibir la replicación vírica. Foscarnet se utiliza en casos de VHS resistentes al aciclovir (Jerome, 2007).

El VHS sobrevive durante periodos de tiempo cortos fuera del huésped (Chayavichitsilp, 2009). Puede sobrevivir en superficies inanimadas secas (la supervivencia oscila entre unas pocas horas hasta 8 semanas). Sobreviven más tiempo a humedades más bajas (Kramer, 2006).

La investigación adicional ha demostrado que el VHS-1 sobrevive hasta 4 horas en agua del grifo y 4,5 horas en superficies plásticas a altos niveles de humedad (Nerurkar, 1983). La observación del VHS-1 en fómites, como superficies plásticas y superficies cromadas, también muestra que el virus infeccioso sigue siendo recuperable después de 2 horas, aunque se observa una reducción de 2-3 log en el título viral de VHS-1 en el plazo de 1 hora en pomos de puerta y grifos/manillas. También se pudo recuperar virus infeccioso a partir de piel humana al menos 2 horas después de su introducción (Bardell, 1989, 1990, 1993, 1994).

10. a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del VHS-1 de tipo silvestre es mediante contacto directo con las secreciones infectadas de membranas mucosas/piel con lesiones de un paciente asintomático o sintomático que está propagando el virus. El VHS-1 también se puede transmitir mediante gotículas respiratorias.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

El ser humano es el único huésped natural del VHS-1 de tipo silvestre. La infectividad del VHS-1 de tipo silvestre depende en parte de tener la envoltura intacta. Por lo tanto, cualquier agente químico (solventes lipídicos y detergentes suaves) o inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) que afecte a la envoltura reduce la infectividad.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

No se conocen modificaciones genéticas anteriores de esta cepa de VHS-1.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base | <input type="checkbox"/> |
| iv) Fusión celular | <input type="checkbox"/> |
| v) Otro (especifíquese) | |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

RP1 se construyó usando una nueva cepa de VHS-1 (cepa RH018). El factor de neurovirulencia codificado por los genes codificadores ICP34.5 y el inhibidor de procesamiento de antígeno codificado por el gen codificador ICP47 se eliminaron del virus. La delección de ICP34.5 reduce la susceptibilidad del tejido normal a la infección lítica debido a la incapacidad del virus para superar las vías de los interferones de tipo 1 (IFN- α/β) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores. El objetivo de la delección de ICP47 en RP1 es mejorar la presentación de antígenos virales y tumorales en las células infectadas, de forma que constituyan mejores dianas para el sistema inmune del huésped. La delección de ICP47 en RP1 también conlleva un aumento en la expresión de la proteína viral US11 (Mohr, 1996). US11 presenta algo de redundancia funcional con ICP34.5 y un aumento en la expresión de US11 aumenta la replicación del VHS-1 con delección de ICP34.5 en tumores, sin pérdida de la selectividad para el tumor (Mohr, 2001). Como se ha eliminado ICP34.5, el virus se replica selectivamente en tumores, lo que limita la expresión de GALV-GP-R- en tejidos no tumorales. La secuencia con

codones optimizados para la proteína superficial del virus de la leucemia de gibones (GALV-GP) con delección de la secuencia R- (R-) provoca fusión celular, lo que conlleva muerte celular. El virus también contiene una secuencia con codones optimizados para el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (hGM-CSF). Se pretende que la activación de GM-CSF durante la respuesta inmune que sigue a la inyección intratumoral del virus modificado genéticamente (MG) provoque una respuesta inmune al provocar la entrada y activación de células dendríticas. El aumento de células dendríticas también puede contribuir a la presentación de antígenos asociados al tumor por parte de las células tumorales, y los siempre importantes linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos del tumor, para estimular así una respuesta antitumoral sistémica y específica (Dranoff, 1993; Huang 1994).

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: Plásmido	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Creado en laboratorio, no procede	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense): delección de ICP34.5 e ICP47	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: carece del gen de resistencia a antibióticos	
Fragmentos constituyentes del vector	
- delección de ICP34.5	
- delección de ICP47	
- inserción de GALV-GP-R-	
- inserción de GM-CSF	
e) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense) Recombinación homóloga.	

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense):	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:
- inserción de GALV-GP-R- controlada por el promotor de repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous (RSV-LTR) y secuencias de poliadenilación
- inserción de GM-CSF controlada por el promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano (hCMV IE) y secuencias de poliadenilación

<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>Homo sapiens</p>
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <ul style="list-style-type: none"> - delección de ICP34.5: La delección de ICP34.5 reduce la susceptibilidad del tejido normal a la infección lítica, debido a la incapacidad del virus para superar las vías de los interferones de tipo 1 (IFN-α/β) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores. Las vías de los interferones tipo 1 y de PKR son vías de defensa inherentes a las células que han evolucionado como protección contra los virus. El tejido normal es capaz de usar las vías del interferón tipo 1 y de PKR para protegerse de la infección lítica provocada por el VHS-1 deficiente en ICP34.5, mientras que muchos tumores conservan la susceptibilidad (Campadelli-Fiume 2011). - delección de ICP47: el objetivo de la eliminación de ICP47 en RP1 es mejorar la presentación de antígenos virales y tumorales en las células infectadas, de forma que estas constituyan mejores dianas para el sistema inmune del huésped. La eliminación de ICP47 en el virus RP1 también conlleva el aumento en la expresión de la proteína viral US11 del VHS-1 (Mohr 1996). US11 presenta algo de redundancia funcional con ICP34.5 y un aumento en la expresión de US11 aumenta la replicación del VHS-1 con delección de ICP34.5 en tumores, sin pérdida de la selectividad para el tumor (Mohr 2001). - inserción de GALV-GP-R-: La versión truncada R- de la glicoproteína fusogénica GALV-GP conserva la actividad constitutiva de fusión celular, que se prevé será beneficiosa para el tratamiento del tumor al aumentar la muerte de las células tumorales y la liberación de antígenos tumorales que refuercen el efecto de vacunación. - inserción de GM-CSF: GM-CSF es una citoquina que forma parte de la respuesta inmune/inflamatoria, y actúa induciendo la proliferación y diferenciación de ciertos tipos de células inmunes, por ejemplo los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los monocitos.
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <ul style="list-style-type: none"> - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/> - Otros especifiquense): Integrado dentro del genoma del VHS-1
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p>

En caso afirmativo , especifíquese:

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Familia (plantas):
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Humanos

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

<p>Especifíquese:</p> <p>RP1 sería incapaz de competir con las cepas existentes del VHS-1 de tipo silvestre, ya que se ha eliminado el gen ICP34.5, que es necesario para la patogenicidad del virus y para que el virus pueda replicarse de forma eficaz en el tejido normal.</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>Se han eliminado del virus los genes que codifican el factor de neurovirulencia (ICP34.5) y el gen que codifica la proteína ICP47. La delección de ICP34.5 permite que el virus se replique selectivamente en tumores. ICP47 es una proteína que inhibe la vía de presentación de antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I al unirse al transportador asociado con la presentación de antígenos (TAP). La delección de ICP47 también hace que US11 se exprese en mayor medida y de forma más temprana. Esto compensa en parte la reducción en la replicación, que también se da en tejidos tumorales, provocada por la delección de ICP34.5, pero sin reducir la selectividad por el tumor.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>La delección de ICP34.5 presente en RP1 reduce la susceptibilidad del tejido normal a la infección lítica, debido a la incapacidad del virus para superar las vías de los interferones de tipo I (IFN-α/β) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores.</p> <p>El objetivo de la delección de ICP47 en RP1 es mejorar la presentación viral y antígenos tumorales en las células infectadas, de forma que las células infectadas constituyan mejores dianas para el sistema inmune del huésped.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

No es posible que RP1 restaure espontáneamente la patogenicidad mediante, por ejemplo, la recuperación de ICP34.5, ya que ICP34.5 no está presente en RP1. Cuando varias cepas diferentes de VHS-1 se están replicando en la misma célula, puede observarse recombinación homóloga espontánea entre sus genomas. No obstante, es muy poco probable que pueda haber recombinación entre RP1 y VHS-1

de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP1 y con VHS-1 de tipo silvestre. Es de esperar que el VHS-1 de tipo silvestre se encuentre solamente en las calenturas o en otros lugares con infección activa de VHS, y RP1 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP1 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP1 esté presente y replicándose en el mismo tejido que el VHS-1 de tipo silvestre.

Se ha demostrado experimentalmente que la recombinación no homóloga (recombinación entre regiones diferentes de los dos genomas del VHS-1) no ocurre a niveles detectables entre cepas de VHS (Smith et al, 2003). Por lo tanto, incluso si RP1 y el VHS-1 de tipo silvestre estuvieran presentes y replicándose en una misma célula y hubiera recombinación, ésta sería homóloga, lo que significa que cualquier transferencia de ADN entre RP1 y el VHS-1 de tipo silvestre se daría desde o hasta la misma ubicación genética. El casete de expresión GM-CSF/GALV que hay en RP1 está insertado en lugar del gen ICP34.5.

Por lo tanto, la transferencia mediante recombinación de este casete a una cepa de tipo silvestre se haría en el locus de ICP34.5, lo que acarrearía la delección del gen ICP34.5. Esto significa que, en términos de habilidad para la reproducción, los virus resultantes quedarían inhabilitados de forma similar a RP1 (y por lo tanto tendrían una desventaja evolutiva en relación con la población de VHS-1 de tipo silvestre). El rango de huéspedes, la susceptibilidad a los agentes antivirales y la susceptibilidad a los métodos de inactivación física o química serían también iguales a los de las cepas parentales. Por lo tanto, cualquier variante genética que pudiera, teóricamente, crearse en eventos de recombinación no conllevaría ningún cambio en el riesgo medioambiental. La recombinación, homóloga o no homóloga, solo puede ocurrir dentro de las células del huésped. No es posible que haya recombinación entre virus en el entorno, tal y como puede suceder con las bacterias.

Los análisis realizados con enfoques de secuenciación mediante PRC y Sanger, confirman la delección de los genes ICP47 y ICP34.5, y la presencia de los genes GALV-R- y hGM-CSF con la secuencia esperada dentro del genoma RP1.

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

La PCR es el método más sensible y específico de diagnóstico de la infección del VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS1; Whitley et al, 1998). Se ha desarrollado un ensayo de qPCR para identificar el rHSV-1/hGM-CSF/GALV-GP-R- (RP1).

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Los análisis realizados con enfoques de secuenciación mediante PRC y Sanger, confirman la delección de los genes ICP47 y ICP34.5, y la presencia de los genes GALV-R- y hGM-CSF con la secuencia esperada dentro del genoma RP1.

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

El objetivo de la liberación intencional es realizar un estudio de fase II, aleatorizado, controlado y de etiqueta abierta sobre cemiplimab como agente en monoterapia y en combinación con RP1 en pacientes con carcinoma espinocelular avanzado (Protocolo PRL-002-18) para determinar el beneficio clínico de la monoterapia con cemiplimab frente a cemiplimab en combinación con RP1 en pacientes con carcinoma cutáneo de células escamosas (CCCE) localmente avanzado o metastásico.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

El lugar de liberación serán centros médicos (es decir, los centros del estudio), donde los sujetos recibirán RP1 administrado por profesionales sanitarios formados, en un entorno controlado.

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

Hospital Univ. Clínic de Barcelona
Hospital Universitario La Princesa
Hospital Univ. Valle de Hebrón
Hospital General Universitario de Valencia
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca
Clínica Universidad de Navarra
Fundación Jiménez Díaz

<p>b) Área del lugar (m²):</p> <p>El tamaño de cada centro varía, no obstante, en el lugar donde tendrá lugar la administración de RP1, se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.</p> <p>i) lugar real de la liberación (m²):</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m²):</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>Se prevé utilizar RP1 en centros médicos para el tratamiento de pacientes con cáncer. Se inyecta directamente dentro del tumor del paciente y el lugar de inyección se cubre con un apósito oclusivo para mitigar el riesgo de posible transferencia de RP1 a terceros. La exposición de los biotopos, zonas protegidas y depósitos de agua potable es muy improbable. En los centros del estudio, todos los desechos se tratarán de la misma forma que los demás desechos de productos humanos y se enviarán fuera del centro para su autoclavado y eliminación. Como el organismo parental se inactiva fácilmente fuera de su huésped y no tiene vectores conocidos, es improbable que los biotopos se vean afectados.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>Tanto el VHS-1 de tipo silvestre como el VHS-1 recombinante son extremadamente susceptibles a la deshidratación, y se inactivan fácilmente fuera de su huésped (Baldo, 2013). RP1 se inactiva de la misma forma que el VHS-1 de tipo silvestre, ya que las modificaciones no influyen en la viabilidad del virus. Por lo tanto, no se espera que se vea afectada ninguna flora ni fauna, incluidas las plantas de interés agrícola, el ganado y las especies migratorias.</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>Cantidad estimada de RP1</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Posología</th> <th>Volumen / dosis</th> <th>Volumen de dosis / paciente</th> <th>Pacientes totales</th> <th>Cantidad total proyectada</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 x 10⁶ PFU/mL</td> <td>1 mL / vial</td> <td>10 mL</td> <td>50</td> <td>5 x 10⁸ PFU / 500 mL</td> </tr> <tr> <td>1 x 10⁷ PFU/mL</td> <td>1 mL / vial</td> <td>70 mL</td> <td>50</td> <td>3.5 x 10¹⁰ PFU / 3500 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Estimación general de la cantidad de RP1</td> <td>2.49 x 10¹⁰ PFU / 2800 mL</td> </tr> </tbody> </table>	Posología	Volumen / dosis	Volumen de dosis / paciente	Pacientes totales	Cantidad total proyectada	1 x 10 ⁶ PFU/mL	1 mL / vial	10 mL	50	5 x 10 ⁸ PFU / 500 mL	1 x 10 ⁷ PFU/mL	1 mL / vial	70 mL	50	3.5 x 10 ¹⁰ PFU / 3500 mL	Estimación general de la cantidad de RP1				2.49 x 10 ¹⁰ PFU / 2800 mL
Posología	Volumen / dosis	Volumen de dosis / paciente	Pacientes totales	Cantidad total proyectada																
1 x 10 ⁶ PFU/mL	1 mL / vial	10 mL	50	5 x 10 ⁸ PFU / 500 mL																
1 x 10 ⁷ PFU/mL	1 mL / vial	70 mL	50	3.5 x 10 ¹⁰ PFU / 3500 mL																
Estimación general de la cantidad de RP1				2.49 x 10 ¹⁰ PFU / 2800 mL																
<p>b. Duración de la operación:</p> <p>La duración, desde el momento en que se inicie el procedimiento de</p>																				

administración de la jeringa de dosificación hasta completar el procedimiento de inyección, será de aproximadamente 2 horas.

c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

Todos los profesionales sanitarios que participen en la administración contarán con formación relativa a las prácticas de seguridad para evitar la liberación accidental del producto en el entorno, y se ceñirán a ellas. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro. En caso de vertido accidental, el centro seguirá sus propios procedimientos de limpieza. Medidas de seguridad: Cada dosis de RP1 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP1 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manejo de materiales infecciosos. El equipo de protección individual (EPI) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla por si acaso se producen salpicaduras. Todo el personal que maneje el OMG con objetos cortopunzantes tendrá formación médica y gran experiencia en las técnicas pertinentes. Como el(los) ensayo(s) se realizará(n) en hospitales, el personal médico y farmacéutico tiene experiencia en técnicas de manejo seguro de agujas para preparar, administrar y desechar los medicamentos, así como en la toma de muestras con objetos cortopunzantes.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

En caso de autoinoculación accidental, se recomienda aumentar el sangrado de la herida. Se deberá avisar al responsable de salud laboral del hospital. Los incidentes y accidentes se tienen que notificar a las autoridades regionales o nacionales siguiendo las normativas pertinentes.

En caso de exposición accidental debida a salpicadura a los ojos o las membranas mucosas, se deberá lavar la zona con agua limpia en grandes cantidades durante al menos 15 minutos. En caso de exposición en la piel abierta o por pinchazo con aguja, se deberá lavar exhaustivamente la zona con agua y jabón, o usar un desinfectante para piel. La persona deberá someterse a vigilancia médica para detectar cualquier signo de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

El tratamiento estándar para el VHS-1 de tipo silvestre es aciclovir intravenoso. RP1 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP1 se tratarán igual que el VHS-1 de tipo silvestre.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

No procede. El ensayo clínico se va a realizar en centros hospitalarios en condiciones controladas para evitar su diseminación.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

La biodistribución y excreción de RP1 se han evaluado como parte de un programa no clínico. Para evaluar la excreción del virus, se midió la presencia de ADN de RP1 mediante qPCR en muestras de sangre, orina, lugar de la inyección, superficie del apósito y frotis de la mucosa. Las muestras positivas (lugar de inyección, apósito o frotis de la mucosa) en la qPCR se sometieron a pruebas adicionales mediante TCID₅₀. En conclusión, el lugar de inyección fue el punto con mayor frecuencia de positivos en el caso de las inyecciones superficiales, y la sangre fue positiva con mayor frecuencia para las inyecciones profundas en la prueba qPCR, pero no hubo positivos confirmados con TCID₅₀. El apósito fue positivo con menos frecuencia que el lugar de inyección en la prueba qPCR, pero ningún positivo se confirmó con TCID₅₀, lo que demuestra que se contuvo el virus. Se detectaron niveles bajos en orina. Se encontró que un pequeño número de pacientes (7) presentaron muestras de mucosa positivas en la prueba qPCR en algún momento de la toma de muestra. En todos los casos la muestra tomada en los siguientes puntos temporales siempre fue negativa (aunque ningún positivo se pudo confirmar con TCID₅₀). Los valores positivos en la prueba qPCR para el lugar de inyección fueron bajos en comparación con la dosis administrada. De todas las muestras que dieron positivo con qPCR, ninguna dio positivo con TCID₅₀. No se detectó virus vivo en ninguna de las muestras de ningún paciente.

No ha habido ningún indicio de transmisión de RP1 a profesionales sanitarios ni contactos estrechos de los pacientes tratados con RP1. Incluso si tal transmisión llegara a darse, no se espera que provoque signos ni síntomas clínicos, ya que RP1 al no es capaz de replicarse en tejidos que no sean tumores.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo diana (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales):	Primates
ii) Familia (plantas):	
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	Homo sapiens
v) Subespecies:	
vi) Cepa:	
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	
viii) Patovar:	
ix) Nombre vulgar:	Humanos

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

RP1 (rHSV-1/hGM-CSF/GALV-GP-R-) es un VHS-1 de replicación selectivamente competente. El virus contiene una secuencia con codones optimizados para hGM-CSF y una secuencia con codones optimizados para GALV-GP R-. La expresión de GALV-GP R- provoca la formación de fusiones celulares (sincitio) en las células tumorales infectadas mediante la unión al receptor PiT-1, expresado de forma constitucional, a GALV. Esto provoca la muerte de las células debido a la fusión de las membranas (Bateman et al. 2000; Simpson et al. 2006) y también se pretende que aumente la diseminación del virus por el tumor. Como RP1 se replica selectivamente en las células que se dividen rápidamente, como el tejido tumoral, se minimiza la expresión de GALV-GP R- en los tejidos normales. Se cree que la destrucción oncolítica de las células tumorales provoca la liberación de antígenos asociados al tumor que se pretende activen una respuesta inmune antitumoral, aumentada por la expresión local de GM-CSF.

Se pretende que este efecto se vea aún más aumentado gracias a la muerte celular asociada a la fusión mediada por GALV-GP R-, que también provoca la producción de muerte celular altamente inmunogénica (Bateman et al. 2002), que también se espera que contribuya a este efecto inmunitario. La respuesta inmune generada podría entonces llevar a la destrucción inmune de tumores distantes que no han recibido inyección, y/o retraso en la progresión de tumores distantes, y/o como vacuna contra la recidiva. Se espera que todos estos factores conlleven una mejoría en el beneficio clínico.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

La competencia con el VHS-1 de tipo silvestre u otras especies no humanas en el medioambiente no es posible, ya que el virus necesita estar dentro de células humanas para replicarse.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
----	--	------------

Especifíquese:

RP1 se ha modificado de forma que la replicación se da de forma selectiva en las células tumorales en la población humana diana. Por lo tanto, es improbable que aumente su competitividad o su capacidad invasiva.

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

La liberación intencional de RP1 no afectará a ningún ecosistema, ya que RP1 se desactiva fácilmente fuera de su huésped humano.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

Ninguno

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

No es posible que RP1 restaure espontáneamente la patogenicidad mediante, por

ejemplo, la recuperación de ICP34.5, ya que ICP34.5 no está presente en las células utilizadas para la producción de las reservas virales.

La recombinación homóloga puede ocurrir de forma espontánea entre los genomas de cepas diferentes de VHS-1 si ambas cepas se están replicando en la misma célula. No obstante, es muy poco probable que pueda haber recombinación entre RP1 y VHS-1 de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP1 y con VHS-1 de tipo silvestre. Es de esperar que el VHS-1 de tipo silvestre se encuentre solamente en las calenturas o en otros lugares con infección activa de VHS, y RP1 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP1 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP1 esté presente y replicándose en el mismo tejido que el VHS-1 de tipo silvestre. El VHS-1 puede entrar en latencia en los ganglios neuronales. No obstante, la latencia no está asociada a replicación viral y, por lo tanto, incluso si RP1 y VHS-1 de tipo silvestre llegaran a estar ambos presentes en los ganglios espinales, lo que es poco probable, no habría recombinación, ya que para el proceso de recombinación es necesario que haya replicación.

Se ha demostrado experimentalmente que la recombinación no homóloga (recombinación entre regiones diferentes de los dos genomas del VHS-1) no ocurre a niveles detectables entre cepas de VHS (Smith et al., 2003). Por lo tanto, incluso si RP1 y el VHS-1 de tipo silvestre estuvieran presentes y replicándose en una misma célula y hubiera recombinación, ésta sería homóloga, lo que significa que cualquier transferencia de ADN entre RP1 y el VHS-1 de tipo silvestre se daría desde o hasta la misma ubicación genética. Por lo tanto, la transferencia recombinante de este casete a una cepa de tipo silvestre se haría en el locus de ICP34.5, lo que acarrearía la delección del gen ICP34.5. Esto significa que, en términos de capacidad replicativa, los virus resultantes quedarían inhabilitados de forma similar a RP1 (y por lo tanto tendrían una desventaja evolutiva en relación con la población de VHS-1 de tipo silvestre). El rango de huéspedes, la susceptibilidad a los agentes antivirales y la susceptibilidad a los métodos de inactivación física o química serían también iguales a los de las cepas parentales. Por lo tanto, cualquier variante genética que pudiera, teóricamente, crearse en eventos de recombinación no conllevaría ningún cambio en el riesgo medioambiental. La recombinación, homóloga o no homóloga, solo puede ocurrir dentro de las células del huésped. No es posible que haya recombinación entre virus en el entorno, tal y como puede suceder con las bacterias.

a) De otros organismos al OMG:

Competencia con especies existentes: RP1 sería incapaz de competir con las cepas existentes del VHS-1 de tipo silvestre, ya que se ha eliminado el gen ICP34.5, que es necesario para la patogenicidad del virus y para que el virus pueda replicarse de forma eficaz en el tejido normal.

b) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

RP1 se ha construido eliminando los genes ICP34.5 y ICP47. Con estas delecciones, se han eliminado el factor de neurovirulencia y el inhibidor de presentación de antígenos. Por lo tanto, no se espera que haya ninguna consecuencia en caso de transferencia genética.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

Hay muchos estudios que indican que la patogenicidad del VHS-1 con delección del gen ICP34.5 se ve atenuada sustancialmente en animales y humanos (Harrington, 2010; Harrow, 2004; Hu, 2006; Hunter, 1999; Mace, 2008; MacKie, 2001; Papanastassiou, 2002; Perng, 1995; Rampling, 2000; Senzer, 2009; Valyi-Nagy, 1994; Varghese, 2001; Whitley, 1993).

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No procede, ya que RP1 es susceptible a la deshidratación fuera de su huésped humano. Por lo tanto, no es de esperar que afecte a la biogeoquímica ambiental.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se ha desarrollado una técnica qPCR para la detección y cuantificación RP1 con objetivo tanto de analizar la calidad del producto como para vigilar la presencia de RP1 tras su administración.

Es improbable que RP1 se disperse más allá del lugar de liberación intencional. Se prevé utilizar RP1 en centros médicos para el tratamiento de pacientes con cáncer. El lugar de inyección se cubre con un apósito oclusivo para mitigar el posible riesgo de transferencia de RP1 a terceros. Se espera que los procedimientos de manejo y la eliminación aseguren la improbabilidad de que RP1 acabe en el aire, el agua o el suelo en el punto de liberación intencional.

Las muestras de los participantes del estudio que contengan el OMG administrado se obtienen y envían el mismo día al PPD (laboratorio central). No se prevé el almacenamiento de muestras en los centros médicos. Las muestras que se evaluarán serán: sangre, orina, frotis bucal, frotis del lugar de inyección, frotis del exterior del apósito y biopsia tumoral.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Es improbable que RP1 se establezca en el medioambiente, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP1 se utilizará en un entorno clínico controlado y no tendrá ninguna interacción con otros OMG. La vía principal de excreción es en el lugar de inyección. Los lugares de inyección se cubrirán con apósitos oclusivos inmediatamente tras la inyección. Los apósitos se sustituirán cuando sea necesario hasta la siguiente visita del ensayo. Para más información sobre los datos de biodistribución relativos a la excreción desde el apósito oclusivo, remítase a la sección B.10.a.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

Remítase a la sección E.4 para más información.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

El tamaño de cada uno de los centros que siguen a los pacientes varía. No obstante, allí donde se administre RP1 se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.

Medidas de seguridad: Cada dosis de RP1 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP1 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manejo de materiales infecciosos. El equipo de protección individual (EPI) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla por si acaso se dan salpicaduras. Todo el personal que maneje el OMG con objetos cortopunzantes tendrá formación médica y gran experiencia en las técnicas pertinentes. Como el(los) ensayo(s) se realizará(n) en hospitales, el personal médico y farmacéutico tiene experiencia en técnicas de manejo seguro de agujas para preparar, administrar y desechar los medicamentos, así como en la toma de muestras con objetos cortopunzantes.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP1 es sensible a los métodos comunes de inactivación, tal como cualquier agente químico (solventes lipídicos y detergentes suaves) o inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) que afecte a la envoltura, lo que reduce su infectividad. RP1 es muy susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera de su huésped, y es susceptible a medicamentos antivíricos, tal como aciclovir.

5. Duración del seguimiento

La duración, desde el momento en que se inicie el procedimiento de administración de la jeringa de dosificación hasta completar el procedimiento de inyección, será de aproximadamente 2 horas. Para ver el tiempo de seguimiento de los pacientes después de la administración del OGM, remítase a la sección 6.

6. Frecuencia del seguimiento

Tabla 2: Puntos temporales para la detección de los niveles de virus RP1 en sangre, orina, saliva/frotis de la mucosa oral, muestras del lugar de inyección y del exterior del apósito, y las lesiones de apariencia herpética mediante qPCR o TCID₅₀ en el estudio RPL-002-18

Estudio y fases	Muestras	Puntos temporales
RPL-002-18 FR 2	Saliva/mucosa oral	En la primera, segunda y tercera inyección de RP1, en los siguientes puntos temporales: antes de la dosis (salvo apósito) y también
	Lugar de inyección y	

	apósito del lugar de inyección	inmediatamente antes de la dosis desde la cuarta hasta la octava dosis (ciclo 3, día 1). Las muestras que se recojan en los días de inyección se recogerán antes de inyectar o manejar el RP1. También se recogerán muestras el día 43 del ciclo 3 y el día 43 del ciclo 4 (aunque no se obtendrán muestras del exterior del apósito en estos puntos temporales). También se recogerán muestras a las 6 horas (+/-2 h), 21 horas (+/-3 h) y 48 horas (+/-6 h) tras administrar la dosis a 24 pacientes después de la primera, segunda y tercera dosis de RP1.
	Lesiones de apariencia herpética	Las muestras (frotis) se recogerán en cualquier momento que haya sospecha de infección viral asociada a RP1.

Las muestras y el calendario de evaluaciones respetan el documento guía de la FDA para el diseño y análisis de estudios de excreción para terapias génicas y productos oncolíticos basados en virus o bacterias (FDA Guidance for Industry – Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products, 2015) y las consideraciones generales del ICH para gestionar virus y excreción viral (ICH Considerations General Principles to Address Virus and Virus Shedding).

La duración del estudio será como sigue: Selección (hasta 28 días), hasta 57 semanas de tratamiento, hasta 6 meses de seguimiento y 3 años de seguimiento de la supervivencia.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todos los viales y las jeringas, usados o no, utilizadas para la administración de RP1 deberán eliminarse siguiendo la política del centro. Una vez finalizada la administración, todos los productos desechables, como agujas, jeringas y equipo de protección individual (EPI) se eliminarán en contenedores de objetos cortopunzantes o contenedores amarillos para desechos patológicos para su incineración. La ropa de cama se lavará siguiendo la política del centro. La zona donde se trata al paciente se descontaminará tal y como indiquen los procedimientos de limpieza del centro. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH

extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP1 es sensible a los métodos comunes de inactivación, tal como cualquier agente químico (solventes lipídicos y detergentes suaves) o inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) que afecte a la envoltura, lo que reduce su infectividad. RP1 es muy susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera de su huésped, y es susceptible a medicamentos antivíricos, tal como aciclovir.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Remítase a la sección I.3.b, más abajo.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los desechos generados con la administración consistirán en:

- Viales y agujas usados
- Torundas usadas y materiales asociados utilizados para limpiar la zona de inyección
- Apósitos usados que se aplican al lugar de inyección
- Equipo de protección individual (EPI) utilizado desde el inicio del procedimiento (es decir, la administración de RP1) y cuando se sustituya o retire el apósito.

La cantidad esperada de desechos puede variar, pero se anticipa que habrá un gran número en cada centro.

3. (b) Tratamiento de residuos

RP1 es sensible tanto a la inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) como a los desinfectantes (solventes lipídicos y detergentes suaves), que lo inactivan de forma rápida.

Como RP1 se administrará en un centro médico, los desechos producidos en el centro se eliminarán de acuerdo con las prácticas estándares del centro para la eliminación de residuos biopeligrosos.

La hoja informativa para pacientes que se da a cada uno de los sujetos del estudio recomienda que los apósitos sucios se lleven al centro del estudio en la siguiente visita para su eliminación. Se pedirá a los sujetos que cualquier otro apósito, guantes desechables o bolsas resellables que se les dé se traten de acuerdo con unas directrices específicas para minimizar el riesgo de exposición accidental en el entorno.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

En caso de autoinoculación accidental, se recomienda aumentar el sangrado de la herida. Se deberá avisar al responsable de salud laboral del hospital. Los incidentes y accidentes se notificarán a las autoridades regionales o nacionales siguiendo las

normativas pertinentes.

En caso de exposición accidental debida a salpicadura a los ojos o las membranas mucosas, se deberá lavar la zona con agua limpia en grandes cantidades durante al menos 15 minutos. En caso de exposición en la piel abierta o por pinchazo con aguja, se deberá lavar exhaustivamente la zona con agua y jabón, o usar un desinfectante para piel. La persona deberá someterse a vigilancia médica para detectar cualquier signo de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

El tratamiento estándar para el VHS-1 de tipo silvestre diseminado es aciclovir intravenoso. RP1 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP1 se tratarán igual que el VHS-1 de tipo silvestre.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

Todos los profesionales sanitarios que participen en la administración contarán con formación relativa a las prácticas de seguridad para evitar la liberación accidental del producto en el medioambiente, y se ceñirán a ellas. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro. En caso de vertido accidental, el centro seguirá sus propios procedimientos de limpieza. Los vectores derivados del VHS, como RP1, son sensibles a los métodos comunes de inactivación que se aplican a los agentes microbianos (Baldo et al., 2013). El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP1 es sensible a los métodos comunes de inactivación, tal como cualquier agente químico (solventes lipídicos y detergentes suaves) o inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) que afecte a la envoltura, lo que reduce su infectividad. RP1 es muy susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera de su huésped, y es susceptible a medicamentos antivíricos, tal como aciclovir.

El equipo de protección individual (EPI) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla por si acaso se dan salpicaduras.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

Es improbable que RP1 se establezca en el entorno, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP1 se utilizará en un entorno clínico controlado y no tendrá ninguna interacción con otros OMG. La vía principal de excreción es en el lugar de inyección. Los lugares de inyección se cubrirán con apósitos oclusivos inmediatamente tras la inyección.

Los apósitos se sustituirán cuando sea necesario hasta la siguiente visita del ensayo. RP1 no infecta plantas ni afecta al entorno biogeoquímico. No se tiene conocimiento

de que el VHS-1 tenga capacidad para la zoonosis y es raro que los herpesvirus provoquen infecciones en otras especies.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

En caso de autoinoculación accidental, se recomienda aumentar el sangrado de la herida. Se deberá avisar al responsable de salud laboral del hospital. Los incidentes y accidentes se notificarán a las autoridades regionales o nacionales siguiendo las normativas pertinentes.

En caso de exposición accidental debida a salpicadura a los ojos o las membranas mucosas, se deberá lavar la zona con agua limpia en grandes cantidades durante al menos 15 minutos. En caso de exposición en la piel abierta o por pinchazo con aguja, se deberá lavar exhaustivamente la zona con agua y jabón, o usar un desinfectante para piel. La persona deberá someterse a vigilancia médica para detectar cualquier signo de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

El tratamiento estándar para el VHS-1 de tipo silvestre diseminado es aciclovir intravenoso. RP1 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP1 se tratarán igual que el VHS-1 de tipo silvestre.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

BIBLIOGRAFÍA

- Baldo, A., E. van den Akker, H. E. Bergmans, F. Lim, and K. Pauwels. 2013. 'General considerations on the biosafety of virus-derived vectors used in gene therapy and vaccination', *Curr Gene Ther*, 13: 385-94.
- Bardell, D. 1989. 'Hand-to-hand transmission of herpes simplex virus type 1.', *Microbios*.
- . 1990. 'Survival of herpes simplex virus type 1 on some frequently touched objects in the home and public buildings', *Microbios*.
- . 1993. 'Survival of herpes simplex virus type 1 in saliva and tap water contaminating some common objects.', *Microbios*.
- . 1994. 'Studies on the survival and inactivation of herpes simplex virus type 1 on coins.', *Microbios*.
- Bateman, A., F. Bullough, S. Murphy, L. Emiliusen, D. Lavillette, F. L. Cosset, R. Cattaneo, S. J. Russell, and R. G. Vile. 2000. 'Fusogenic membrane glycoproteins as a novel class of genes for the local and immune-mediated control of tumor growth', *Cancer Res*, 60: 1492-7.
- Bateman, A. R., K. J. Harrington, T. Kottke, A. Ahmed, A. A. Melcher, M. J. Gough, E. Linardakis, D. Riddle, A. Dietz, C. M. Lohse, S. Strome, T. Peterson, R. Simari, and R. G. Vile. 2002. 'Viral fusogenic membrane glycoproteins kill solid tumor cells by nonapoptotic mechanisms that promote cross presentation of tumor antigens by dendritic cells', *Cancer Res*, 62: 6566-78.
- Chayavichitsilp, Pamela et al. 2009. 'Herpes Simplex', *Pediatrics in Review*.
- Croughan, W. S., and A. M. Behbehani. 1988a. 'Comparative study of inactivation of herpes simplex virus types 1 and 2 by commonly used antiseptic agents', *J Clin Microbiol*, 26: 213-5.
- Croughan, W.S., and A.M. Behbehani. 1988b. 'Comparative Study of Inactivation of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 by Commonly Used Antiseptic Agents', *J Clin Microbiol*, 26: 3.
- Dranoff, Glenn et al. 1993. 'Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity', *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
- Green, Laura K. & Pavan-Langston, Deborah. 2006. 'Herpes Simplex Ocular Inflammatory Disease', *International Ophthalmology Clinics*.
- Harrington, K. J., M. Hingorani, M. A. Tanay, J. Hickey, S. A. Bhide, P. M. Clarke, L. C. Renouf, K. Thway, A. Sibtain, I. A. McNeish, K. L. Newbold, H. Goldsweig, R. Coffin, and C. M. Nutting. 2010. 'Phase I/II study of oncolytic HSV GM-CSF in combination with radiotherapy and cisplatin in untreated stage III/IV squamous cell cancer of the head and neck', *Clin Cancer Res*, 16: 4005-15.
- Harrow, S., V. Papanastassiou, J. Harland, R. Mabbs, R. Petty, M. Fraser, D. Hadley, J. Patterson, S. M. Brown, and R. Rampling. 2004. 'HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival', *Gene Ther*, 11: 1648-58.
- Hu, J. C., R. S. Coffin, C. J. Davis, N. J. Graham, N. Groves, P. J. Guest, K. J. Harrington, N. D. James, C. A. Love, I. McNeish, L. C. Medley, A. Michael, C. M. Nutting, H. S. Pandha, C. A. Shorrock, J. Simpson, J. Steiner, N. M. Steven, D. Wright, and R. C. Coombes. 2006. 'A phase I study of OncoVEX^{GM-CSF}, a second-generation oncolytic herpes simplex virus

- expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor', *Clin Cancer Res*, 12: 6737-47.
- Huang, Alex Y.C. et al. 1994. 'Role of Bone Marrow-Derived Cells in Presenting MHC Class I-Restricted Tumor Antigens', *Science*.
- Hunter, William D. et al. 1999. 'Attenuated, Replication-Competent Herpes Simplex Virus Type 1 Mutant G207: Safety Evaluation of Intracerebral Injection in Nonhuman Primates', *Journal of Virology*.
- Jerome, K.R., and R.A. Morrow. 2007. 'Herpes Simplex Viruses and Herpes B Virus', *Virology*: 17.
- Jerome, KR and Morrow, RA. 2007. 'Herpes simplex viruses and Herpes B virus.' in PR Murray (ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (ASM Press: Washington (DC)).
- Kimberlin, David W. 2005. 'Herpes Simplex Virus Infections in Neonates and Early Childhood', *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*.
- Kramer, Axel et al. 2006. 'How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review', *BioMed Central Infectious Diseases*.
- Kukhanova, M.K. et al. 2014. 'Human Herpes Simplex Virus: Life Cycle and Development of Inhibitors', *Biochemistry*.
- Mace, Alastair et al. 2008. 'POTENTIAL FOR EFFICACY OF THE ONCOLYTIC HERPES SIMPLEX VIRUS 1716 IN PATIENTS WITH ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA', *Head and Neck*.
- MacKie, Rona M. et al. 2001. 'Intralesional injection of herpes simplex virus 1716 in metastatic melanoma', *The Lancet*.
- Miller, G.G. and Dummer, J.S. . 2007. 'Herpes Simplex and Varicella Zoster Viruses: Forgotten but Not Gone', *American Journal of Transplantation*.
- Mohr, I., D. Sternberg, S. Ward, D. Leib, M. Mulvey, and Y. Gluzman. 2001. 'A herpes simplex virus type 1 gamma34.5 second-site suppressor mutant that exhibits enhanced growth in cultured glioblastoma cells is severely attenuated in animals', *J Virol*, 75: 5189-96.
- Mohr, Ian et al. 1996. 'A herpesvirus genetic element which affects translation in the absence of the viral GADD34 function.', *The EMBO Journal*.
- Nerurkar, Lata S. et al. 1983. 'Survival of Herpes Simplex Virus in Water Specimens Collected From Hot Tubs in Spa Facilities and on Plastic Surfaces', *Jama*.
- Papanastassiou, V. et al. 2002. 'The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study', *Gene Therapy*.
- Perng, G. C., R. L. Thompson, N. M. Sawtell, W. E. Taylor, S. M. Slanina, H. Ghiasi, R. Kaiwar, A. B. Nesburn, and S. L. Wechsler. 1995. 'An avirulent ICP34.5 deletion mutant of herpes simplex virus type 1 is capable of in vivo spontaneous reactivation', *J Virol*, 69: 3033-41.
- Prince, Herbert N., and Daniel L. Prince. 2001. 'Principles of Viral Control and Transmission.' in Seymour S. Block (ed.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA).
- Rampling, R., G. Cruickshank, V. Papanastassiou, J. Nicoll, D. Hadley, D. Brennan, R. Petty, A. MacLean, J. Harland, E. McKie, R. Mabbs, and M. Brown. 2000. 'Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma', *Gene Ther*, 7: 859-66.
- Senzer, Neil N. et al. 2009. 'Phase II Clinical Trial of a Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Encoding, Second-Generation Oncolytic

- Herpesvirus in Patients With Unresectable Metastatic Melanoma', *Journal of Clinical Oncology*.
- Simpson, G. R., A. Horvath, N. E. Annels, T. Pencavel, S. Metcalf, R. Seth, P. Peschard, T. Price, R. S. Coffin, H. Mostafid, A. A. Melcher, K. J. Harrington, and H. S. Pandha. 2012. 'Combination of a fusogenic glycoprotein, pro-drug activation and oncolytic HSV as an intravesical therapy for superficial bladder cancer', *Br J Cancer*, 106: 496-507.
- Smith, Jill, Suzanne Thomas, Robert Coffin, and David Latchman. 2003. 'Examination of the potential interactions between herpes simplex virus vectors and replication-competent virus in vitro and in vivo', *Gene Therapy and Regulation*, 2: 29-47.
- Tischer, B. Karsten and Osterrieder, Nikolaus. 2010. 'Herpesviruses - a zoonotic threat?', *Vet Microbiol*.
- Valyi-Nagy, T., M. U. Fareed, J. S. O'Keefe, R. M. Gesser, A. R. MacLean, S. M. Brown, J. G. Spivack, and N. W. Fraser. 1994. 'The herpes simplex virus type 1 strain 17+ gamma 34.5 deletion mutant 1716 is avirulent in SCID mice', *J Gen Virol*, 75 (Pt 8): 2059-63.
- Varghese, Susan et al. 2001. 'Preclinical Safety Evaluation of G207, a Replication-Competent Herpes Simplex Virus Type 1, Inoculated Intraprostatically in Mice and Nonhuman Primates', *Human Gene Therapy*.
- Whitley, R.J. 1993. 'Neonatal Herpes Simplex Virus Infections', *Journal of Medical Virology*.
- Whitley, Richard et al. 1998. 'Herpes Simplex Virus', *Clinical Infectious Diseases*.
- Whitley, Richard J. . 2006. 'Herpes simplex encephalitis: Adolescents and adults', *Antiviral Research*.
- Wood, A & Payne, D. 1998. 'The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses', *Journal of Hospital Infection*.