

**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
b) Número de la notificación:	B/ES/21/20
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	10/06/2021
a) Título del proyecto:	“Estudio en fase I/II de los vectores TheraT® que expresan antígenos específicos del virus papiloma humano 16 positivo (VPH 16+) en pacientes con cánceres VPH 16+ confirmados” Identificador de ClinicalTrials.gov: NCT04180215; Número EudraCT: 2019-000907-34
b) Período propuesto para la liberación:	Del 1 de octubre de 2021 al 1 de noviembre de 2023

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	Hookipa Biotech GmbH Helmut-Qualtinger-Gasse 2 1030 Vienna Austria
-------------------------------------	---

**3. Definición del OMG**

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

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces

- otro animal  especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

**HB-201**

Género: *Mammarenavirus*

Especie: *Virus de la coriomeningitis linfocítica* (VCL), Clon 13 de la cepa Amstrong (acceso al Genbank n.º DQ361065 y DQ361066). En lugar de la glicoproteína (GP) del clon 13 de la cepa VCL, se utiliza la GP de la cepa WE de VCL en el OMG final HB-201 (acceso al Genbank n.º AJ297484.1 - gen gp-C de la cepa WE de VCL).

El inserto es una proteína de fusión inactivada (E7E6) basada en la proteína temprana 7 (E7) y en la E6 del *virus del papiloma humano* 16 (VPH16; acceso al Genbank n.º K02718)

**HB-202**

Género: *Mammarenavirus*

Especie: *Virus Pichindé* de pase 18 (PICV p18)

(Acceso al Genbank n.º EF529747.1 y EF529746.1)

El inserto es una proteína de fusión inactivada (E7E6) basada en la proteína temprana 7 (E7) y en la E6 del *virus del papiloma humano* 16 (VPH16; acceso al Genbank n.º K02718)

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

Los eventos de recombinación entre virus de ARN de cadena negativa como el VCL o el PICV parecen ser eventos poco comunes *in vivo* (Han y Worobey, 2011). Se ha informado de la variabilidad genética de un pase a otro para los arenavirus, al igual que con otros virus de ARN, debido a la ARN-polimerasa dependiente de ARN propensa a errores de los arenavirus (Grande-Perez et al., 2016). Los estudios en cultivos celulares y en modelos animales indican que la integridad genómica de los vectores virales TheraT®, como el HB-201 y el HB-202, se mantiene sin alteraciones *in vivo* y a través de múltiples pases *in vitro* (Kallert et al., 2017; Bonilla et al., 2021). Estos datos experimentales refuerzan la validez del concepto del vector TheraT®, cuya atenuación se basa en una organización genética alterada y no en mutaciones atenuantes únicas que podrían revertirse mediante mutaciones puntuales. Durante el proceso de fabricación de los HB-201 y HB-202 se seleccionaron las respectivas semillas premaestras de virus y se secuenciaron las secuencias de nucleótidos de los respectivos esqueletos del vector y el antígeno E7E6. El análisis de los archivos de la secuencia consenso reveló la integridad de la secuencia de los esqueletos del vector y la corrección de la secuencia de codificación del inserto. Cabe destacar que, en HB-201, se detectó un cambio de nucleótidos en el marco de lectura abierta de E7E6 del segmento genómico pequeño (S) que codifica la GP, que dio lugar a una mutación silenciosa de la proteína de fusión E7E6 (S175S), de modo que la secuencia de aminoácidos permaneciera inalterada.

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: <a href="#">NL</a> , <a href="#">IT</a> , <a href="#">FR</a>	

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

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: - Estado miembro de la notificación: <a href="#">Estados Unidos de América (EE. UU.)</a> - Número de la notificación:	

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

La aplicación prevista de HB-201 como monoterapia o con HB-202 en régimen de alternancia secuencial se limita a un máximo de aproximadamente 200 pacientes  $\geq$  18 años de edad con cánceres VPH 16+ confirmados.

El HB-201 se administrará por vía intravenosa o intratumoral y el HB-202 sólo por vía intravenosa, por un profesional sanitario en un hospital o centro de salud.

Existe la posibilidad de que el vector viral se disemine en el medio ambiente y posiblemente en el público durante la liberación propuesta. Por lo tanto, en esta propuesta de liberación se tomarán medidas para reducir al mínimo la exposición y la transmisión involuntarias.

Se han puesto en marcha estrategias de supervisión adecuadas para recopilar más información sobre la seguridad y el perfil de diseminación de vectores virales de la monoterapia con HB-201 y la terapia con HB-201 y HB-202 en régimen de alternancia secuencial, antes de su desarrollo posterior (a mayor escala).

El hospedador natural del VCL ts es el ratón, con una prevalencia de la infección variable en todo el mundo. No hay indicios de la transmisión de persona a persona del VCL de tipo salvaje, a excepción de la transmisión vertical de una madre infectada a su feto durante el embarazo, y a través del tras-plante de órganos sólidos de un donante infectado (revisado en Buchmeier et al., 2007). Las pacientes con potencial reproductivo deben cumplir con los criterios de inclusión de anticonceptivos señalados en el protocolo del estudio clínico.

El PICV se ha aislado principalmente de *Oryzomys albigularis* (rata de arroz montana) en las montañas de los Andes de Colombia y con una frecuencia mucho menor de otra especie de roedor, *Thomasomys fuscatus*, también endémica de esta región geográfica (Trapido y Sanmartin, 1971). El hábitat natural del PICV ts parece estar restringido geográficamente a la región endémica de sus hospedadores naturales y, por lo que sabe Hookipa, no se han notificado casos de cepas del PICV aisladas de otras regiones geográficas. No hay ningún caso documentado de enfermedad humana relacionada con el PICV, ni siquiera entre la población local, ni en el campo ni en el laboratorio, a pesar de que se conoce este agente desde hace casi medio siglo (Trapido y Sanmartin, 1971, Buchmeier et al., 2007).

Se espera que la naturaleza y la estabilidad genética demostrada de la atenuación de TheraT® limiten la propagación de estos OMG en el medio ambiente, en particular a los ratones silvestres, el hospedador natural del VCL (cepa parental para HB-201) y a los hámsters y cobayas que son susceptibles de ser infectados por el VCL ts y el PICV p18, (cepa parental para HB-202) y también se anticipa que limitará la propagación a cualquier otro posible receptor mamífero no intencionado en el caso de liberación no intencionada o de la diseminación de los pacientes tratados.

Los riesgos de exposición para individuos no intencionados o para el medio ambiente y el riesgo de recombinación entre el HB-201 y el HB-202 en pacientes que reciben la administración alternante secuencial del HB-201 y el HB-202 se consideran bajos en base a datos experimentales.

En conclusión, el promotor considera que los riesgos medioambientales globales asociados a la liberación de HB-201 y HB-202 en las condiciones propuestas con las precauciones y las actividades de supervisión son bajos y están adecuadamente mitigados.

**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 checked="" type="checkbox"/>
Virus ADN	<input 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, (especifíquense):	

**2. Nombre**

i) Orden y taxón superior (animales): <u>HB-201:</u> <i>Bunyavirales</i> (orden); <i>Arenaviridae</i> (familia) <u>HB-202:</u> <i>Bunyavirales</i> (orden); <i>Arenaviridae</i> (familia)
ii) Género: <u>HB-201:</u> <i>Mammarinavirus</i> <u>HB-202:</u> <i>Mammarinavirus</i>
iii) Especie: <u>HB-201:</u> <i>Virus de la coriomeningitis linfocítica</i> <u>HB-202:</u> <i>Virus Pichindé</i>
iv) Subespecie: -
i) Cepa: <u>HB-201:</u> <i>Cepa Armstrong-Clon 13 y de la cepa WE</i>

<u><a href="#">HB-202: de pase 18 (p18)</a></u>
ii) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): -
iii) Nombre vulgar: <u><a href="#">HB-201: Virus de la coriomeningitis linfocítica (VCL)</a></u> <u><a href="#">HB-202: Virus Pichindé (PICV)</a></u>

### 3. Distribución geográfica del organismo

#### Distribución geográfica del VCL

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 checked="" type="checkbox"/> Boreal <input checked="" type="checkbox"/> Alpino <input checked="" type="checkbox"/> Continental <input checked="" type="checkbox"/> Macaronésico <input checked="" 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"/>

#### Distribución geográfica del PICV

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:
---

SÍ <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:		
i) Sí <input type="checkbox"/>		
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:		
Atlántico	<input 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 checked="" 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): Roedores;

**VCL:** amplio rango geográfico debido a su hospedador natural, el ratón doméstico - *Mus musculus/Mus domesticus*

**PICV:** Colombia: debido a sus hospedadores naturales, principalmente *Oryzomys albigularis* (rata de arroz montana) y ocasionalmente *Thomasomys fuscatus*

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No procede

**5. a) Técnicas de detección**

Para detectar el VCL se pueden utilizar kits de RCP o ELISA disponibles en el mercado. El PICV está restringido geográficamente y está descrito como no patógeno para el ser humano. Por lo tanto, no se dispone de ningún ensayo comercial para el diagnóstico de laboratorio clínico del PICV.

**5. b) Técnicas de identificación**

Kits de RCP o ELISA para VCL disponibles en el mercado, seguidos de un análisis de secuenciación por consenso. No hay kits comerciales disponibles para el PICV, ya que se desconoce si provoca enfermedades en los seres humanos.

**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

No



En caso afirmativo, especifíquese:

**VCL**

En la UE, según la Directiva 2000/54/CE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos en el trabajo, el VCL de tipo salvaje está clasificado como agente biológico del grupo de riesgo 2, (Directiva CE 2000/54/CE, junio de 2020).

En Alemania, una declaración de posición emitida por la Comisión Central de Bioseguridad (ZKBS), en la que se evaluaban las cepas de VCL utilizadas como organismos donantes o receptores en operaciones de ingeniería genética, recomendaba manejar todas las cepas de VCL, como las utilizadas para los eslabones del HB-201, bajo medidas de contención (BSL-2), ya que se considera que la patogenicidad del VCL depende del estado inmunitario del hospedador más que de las características de la cepa de VCL (Declaración de posición, ZKBS, julio de 2020). En Austria, el material del VCL parental está clasificado como agente BSL-2 por las autoridades nacionales responsables de los OMG bajo el número de licencia austriaca para trabajar con el agente descrito BMG-76110/0018-II/B/16/2016. Las directrices del Reino Unido emitidas por el Comité Asesor del Ejecutivo de Salud y Seguridad sobre Patógenos Peligrosos clasifica la cepa Armstrong de VCL ts como patógeno humano del grupo de riesgo 2.

**PICV**

En Austria, el material del virus (ts) PICV p18, cepa parental del HB-202, está clasificado como agente BSL-2 por la autoridad nacional responsable de los OMG bajo el número de licencia austriaca para trabajar con el agente descrito BMG-76110/0018-II/B/16/2016. En Alemania (base de datos ZKBS de microorganismos evaluados en materia de seguridad) y en el Reino Unido (Comité Asesor del Ejecutivo de Salud y Seguridad sobre Patógenos Peligrosos) las directrices nacionales también clasifican el PICV de tipo salvaje como patógeno humano del grupo de riesgo 2.

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 checked="" 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.

### VCL

#### *Roedores y primates no humanos*

El hospedador natural del VCL es el ratón doméstico (*Mus musculus*); otros roedores, incluidos los hámsters domésticos, pueden ser reservorios alternativos (Buchmeier et al., 2007; Brisse y Ly, 2019). En las colonias de ratones portadores, el virus se mantiene a lo largo de generaciones por transmisión transplacentaria y no provoca ninguna enfermedad clínica en su hospedador natural. Una infección aguda en ratones adultos se controla mediante una respuesta inmunitaria celular contundente, mientras que los ratones con infección en el útero o infectados poco después del nacimiento se vuelven inmunológicamente tolerantes al virus y desarrollan una infección persistente por VCL de por vida. El modelo de ratón se utiliza habitualmente para investigar la patogénesis del VCL. Asimismo, los ratones adultos representan el modelo animal más fiel y sensible para recapitular una coriomeningitis inducida por el VCL en seres humanos, una complicación rara y clínicamente significativa de la infección por el VCL en adultos humanos inmunocompetentes (consulte la subsección *Seres humanos*, a continuación). En el ámbito zoológico, los primates no humanos alimentados involuntariamente con ratones infectados por el VCL como suplemento proteico desarrollaron una enfermedad hepática; sin embargo, no se observó ninguna transmisión horizontal ni infección crónica dentro del grupo de animales (Buchmeier et al., 2007).

#### *Seres humanos*

En seres humanos, el VCL es un patógeno poco frecuente y el promotor no tiene constancia de casos documentados de transmisión de persona a persona. La seroprevalencia en seres humanos es muy baja en la mayoría de los continentes y regiones geográficas y normalmente no supera el 5 % de la población humana (Welsh y Seedhom, 2008). La gran mayoría de los individuos infectados por el VCL permanecen completamente asintomáticos o pueden experimentar una enfermedad inespecífica, similar a la gripe. En el 1-2 % de los casos clínicos, la enfermedad puede evolucionar hacia una coriomeningitis aséptica (Bonthius, 2012).

En sujetos muy inmunocomprometidos, el VCL puede provocar una enfermedad más grave, como se ha observado en pacientes con trasplantes de órganos tras una inmunosupresión grave concomitante con el injerto de tejido infectado por el VCL (Fischer et al., 2006). La transmisión vertical por infección congénita del feto humano puede producirse cuando la madre se infecta durante el embarazo. Esta transmisión vertical puede provocar abortos o enfermedades clínicas en el feto, incluidas malformaciones del sistema nervioso central del nonato (Bonthius, 2012).

### PICV

#### *Roedores*

El PICV se propaga de forma natural a través de *Oryzomys albicularis*, que puede infectarse de forma crónica y mantener el virus en su sangre y virus de forma persistente en sus excreciones (Trapido & San Martín, 1971, Buchmeier et al., 2007). Los ratones infectados experimentalmente con el PICV de tipo salvaje pueden eliminar la infección en varios días sin ningún síntoma clínico externo. No en todos los roedores el virus demuestra una patogenicidad similar. Por ejemplo, se sabe que un PICV de pase bajo

(cepa PICV p2) provoca una enfermedad febril limitada en cobayas que se elimina con el tiempo; sin embargo, se ha demostrado que el pase en serie en cobayas aumenta drásticamente la patogenicidad del virus en esta especie. La variante adaptada del PICV p18 resultante es letal para las cobayas endogámicas. Sin embargo, se ha demostrado que es benigna en primates, hámsters sirios dorados y ratones suizos inoculados periféricamente (Jahrling et al., 1981). Por consiguiente, se considera poco probable que la adaptación de la cepa ancestral del PICV p2 a la p18, que se utilizó para la producción de HB-202, aumente la capacidad del virus de replicarse en seres humanos y de provocar enfermedades en humanos.

#### *Seres humanos*

Aunque la base de datos para evaluar el peligro biológico que supone el PICV adaptado no es tan extensa como la documentada para el prototipo de arnavirus VCL, no hay ni un solo caso documentado de enfermedad humana relacionada con el PICV, ni en el campo ni en el laboratorio, a pesar de que se conoce este agente desde hace casi medio siglo (Trapido y Sanmartin, 1971). Las pruebas serológicas sugieren una seroprevalencia muy baja, incluso entre la población local que ha estado expuesta al virus. En un estudio, dos de 82 personas (2,4 %) examinadas en el hábitat geográfico de roedores infectados por el PICV mostraron indicios de seroconversión (Trapido y Sanmartin, 1971). En el ámbito del laboratorio, el PICV puede provocar infecciones humanas asintomáticas. En un estudio, aproximadamente el 50 % de los empleados de laboratorio expuestos accidentalmente al virus resultaron infectados, como lo demuestra la seroconversión, es decir, el desarrollo de una respuesta inmunitaria dirigida al PICV. Sin embargo, no se notificó ninguna enfermedad reconocible (Buchmeier et al., 1974). Además, la falta de indicios de infección entre personas que trabajan en el mismo laboratorio pero que no están expuestas al PICV observada en este estudio implicaría que este virus no parece propagarse fácilmente de persona a persona.

### 8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:		
Los arnavirus como el VCL y el PICV no persisten de forma natural en el medio ambiente fuera de una célula hospedadora. La velocidad de replicación en una célula hospedadora es de aproximadamente cuatro a seis horas.		
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:		
En los centros clínicos no se realizará ninguna manipulación de laboratorio ni fabricación del vector viral. Todas las vacunas se administrarán a los sujetos dentro de los centros clínicos designados, cuyas instalaciones sanitarias cumplen con las condiciones de nivel de seguridad 2.		
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/>	Asexual <input type="checkbox"/>
Otras: replicación viral		
d) Factores que afectan a la reproducción: VCL y PICV son virus vivos que necesitan una célula hospedadora para replicarse.		

### 9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

- i) endosporas
- ii) quistes
- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos
- vii) pupas
- viii) larvas

ix) otras (especifíquense) No procede.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

VCL y PICV no pueden sobrevivir fuera del hospedador. A menos que se establezcan a propósito con suero o proteínas, estos virus se inactivan rápidamente en el tampón o en el medio de cultivo celular. En ausencia de suero, se determinó que la vida media del PICV ts era de unas 14 horas a 22°C. El VCL y el PICV de tipo salvaje son inestables y pierden cantidades significativas de infectividad al exponerse a temperaturas superiores a 55°C durante al menos 20 minutos. Ambas especies de virus también se inactivan con la irradiación ultravioleta. Como virus recubiertos por membrana, los arenavirus como el VCL ts y el PICV ts son sensibles a los desinfectantes habituales, como el hipoclorito de sodio, los aldehídos, el hidróxido de sodio, el formaldehído y el ácido peracético.

**10. a) Vías de diseminación**

VCL y PICV tienen reservorios en los roedores y no se adaptan a los hospedadores humanos (Buchmeier et al., 2007 (consulte la B.7.b)). La transmisión del portador roedor al ser humano se produce a través de las mordeduras y, supuestamente, también por la exposición directa de la mucosa del ser humano a las excreciones infecciosas de roedores persistentemente infectados.

El promotor no tiene constancia de casos documentados de transmisión de VCL de persona a persona, con la excepción de la transmisión vertical al feto humano cuando la madre se infecta durante el embarazo y a través del trasplante de órganos sólidos de un donante infectado.

Mammarenavirus, el PICV se propaga de forma natural mediante *Oryzomys albigularis*, que puede infectarse de forma crónica, mantener el virus en su sangre y desprender virus persistentemente en sus excreciones. El PICV se transmite por inhalación de partículas en el aire o por ingestión de alimentos o agua contaminados (Trapido y Sanmartin, 1971; Buchmeier et al., 2007). Se desconoce si el PICV provoca enfermedades en los seres humanos.

**10. b) Factores que afectan a la diseminación**

**VCL**

En sujetos muy inmunocomprometidos, el VCL puede provocar una enfermedad más grave, como se ha observado en pacientes con trasplante de órganos tras una inmunosupresión severa concomitante con el injerto de tejido infectado por el VCL (Fischer et al., 2006; consulte también la sección B.7.b).

**PICV**

No hay ni un solo caso documentado de enfermedad humana relacionada con el PICV, ni en el campo ni en el laboratorio, a pesar de que se conoce este agente desde hace casi medio siglo (Trapido y Sanmartin, 1971; Buchmeier et al., 1974). Por tanto, la exposición al PICV parece estar restringida geográficamente, con un bajo potencial de transmisión a los seres humanos.

**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 procede. No ha habido ninguna notificación previa.

**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 checked="" type="checkbox"/> |
| iv) Fusión celular                   | <input type="checkbox"/>            |
| v) Otro (especifíquese)              |                                     |

**2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética**

Los mamarenavirus, como el PICV y el VCL, se dirigen a las células presentadoras de antígenos (CPA) profesionales, proporcionando antígenos para la inducción eficiente de linfocitos T citotóxicos (LTC) CD8+. Al igual que sus virus parentales, HB-201 y HB-202 demuestran tropismo hacia las CPA y entregan el antígeno asociado al tumor E7E6 para la inducción eficiente de una potente respuesta de las células T dirigida contra las células tumorales del VPH 16+ (Schmidt et al., 2020; Bonilla et al., 2021).

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

Sí

No

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 type="checkbox"/>	No <input checked="" 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 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:	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
f) 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)	

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) <b>Electroporación</b>	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción: <p>Tanto el HB-201 como el HB-202 codifican una proteína de fusión E7E6 sintética, no oncogénica, formada por las proteínas tempranas (E) 7 y E6 del VPH 16. Aunque se sabe que las proteínas E7 y E6 de tipo salvaje codificadas por el VPH 16 son oncoproteínas, la proteína de fusión E7E6 se convirtió en no oncogénica mediante la introducción de cinco mutaciones, que anulan eficazmente la actividad oncogénica (Cassetti et al., 2004).</p>
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: <p>Las secuencias de inserción se han sintetizado químicamente y se basan en secuencias de referencia disponibles al público (Cassetti et al., 2004). La proteína temprana 6 y 7 de la cepa 16 del virus del papiloma humano (VPH-16) se basa en la secuencia K02718 del Genbank.</p>
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG <p>Los componentes E6 y E7 de la proteína de fusión sintética E7E6 son antígenos inmunitarios no oncogénicos (Cassetti et al., 2004). El inserto E7E6 aportado por HB-201 y HB-202 a las células presentadoras de antígeno profesionales, induce la afluencia de células T efectoras CD8+ específicas del VPH16 en el tumor, lo que resulta en la eliminación mediada por LTC de las células tumorales VPH16+ (Schmidt et al., 2020, Bonilla et al., 2021).</p>
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: <p>- en un plásmido libre <input type="checkbox"/></p> <p>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/></p> <p>- Otros especifíquense): El inserto está integrado en los segmentos pequeños (S) del genoma de los vectores virales HB-201 y del HB-202.</p>
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí

No

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 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 ( especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Papovaviricetes</i> (clase) <i>Zurhausenvirales</i> (orden)
ii) Familia (plantas): <i>Papillomaviridae</i>
iii) Género: <i>Alfapapilavirus</i>
iv) Especie: <i>Virus del papiloma humano (VPH)</i>
v) Subespecie: -
vi) Cepa: 16
vii) Cultivar/línea de reproducción: -
viii) Patovar: -
ix) Nombre vulgar: <i>virus del papiloma humano 16 (VPH16)</i>

3. ¿Es el organismo 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, especifíquese		
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) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input 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:		
<p>Las proteínas E6 y E7 de tipo salvaje son estrictamente necesarias para el mantenimiento de un fenotipo maligno en los cánceres inducidos por el VPH. Sin embargo, la secuencia de nucleótidos, que codifica la proteína de fusión E7E6 del VPH-16 insertada en HB-201 y HB-202, fue sintetizada químicamente introduciendo mutaciones en cinco posiciones pivotaes para eliminar las capacidades de unión de la proteína de la retinoblastoma pRb y de la proteína supresora de tumores p53, anulando así la oncogenicidad de las proteínas parentales E7 y E6, al tiempo que se mantiene toda la antigenicidad (Cassetti et al., 2004).</p>		

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 checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo , especifíquese:	
El virus del papiloma humano figura en el Anexo III de la Directiva 2000/54/CE como clasificación de peligro de infección del grupo de riesgo 2.	

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

No

No se sabe

Especifíquese: Además de agrupar un segmento adicional del genoma, la estructura física de las partículas HB-201 y HB-202 es idéntica a la del VCL ts y el PICV ts, respectivamente. Así, al igual que sus respectivas cepas parentales, se prevé que los vectores virales se inactiven rápidamente fuera de una célula hospedadora y que sean susceptibles a los tratamientos con desinfectantes habituales, a la luz ultravioleta y al calor.

b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: Según los datos experimentales de los programas de desarrollo preclínico, las cepas HB-201 y HB-202 tienen una capacidad de replicación atenuada y, por lo tanto, son eliminadas más eficazmente por el sistema inmunitario que sus respectivas cepas parentales de tipo salvaje (Schmidt et al., 2020, Bonilla et al., 2021).

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: Consulte la respuesta a E 1(b) anterior. Se espera que la característica atenuada de HB-201 y HB-202 en comparación con sus respectivas cepas parentales de tipo salvaje limite la propagación y supervivencia de HB-201 y HB-202 en el medio ambiente.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese: HB-201 y HB-202 están significativamente atenuados en comparación con sus respectivos virus parentales en modelos animales de infección (Schmidt et al., 2020, Bonilla et al., 2021).

## 2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

HB-201 y HB-202 son vectores virales competentes para la replicación, pero atenuados. Se han diseñado para evitar la reversión a un fenotipo de tipo salvaje. La estabilidad genómica y genética de HB-201 y HB-202 se mantiene a través de múltiples pases *in vitro* e *in vivo*. La integridad de la secuencia de nucleótidos se confirmó en diferentes etapas de la fabricación (bajo las normas de correcta fabricación NCF). La estabilidad del fenotipo de crecimiento está siendo supervisada rutinariamente como parte del procedimiento analítico para la liberación del material de la sustancia farmacológica a granel del vector viral.

La reversión del E7E6 mutado a una forma oncogénica es extremadamente improbable debido al uso de múltiples atenuaciones en cada secuencia de proteína. Tanto los

componentes E6 como E7 de la proteína de fusión sintética E7E6 conservan su función como antígenos inmunitarios, demostrando la respuesta inmunitaria y el control del tumor en un modelo murino (Cassetti et al., 2004, Wieking et al., 2012).

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

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

El VCL de tipo salvaje es un patógeno que se encuentra en todo el mundo. No hay pruebas de la transmisión de persona a persona del VCL de tipo salvaje, a excepción de la transmisión vertical de una madre infectada a su feto durante el embarazo y a través del trasplante de órganos sólidos de un donante infectado (consulte la sección B.7.b). El hábitat geográfico del PICV ts parece estar restringido a las montañas de los Andes en Colombia. No hay ningún caso documentado de enfermedad humana relacionada con el PICV, ni siquiera entre la población local, ni en el campo ni en el laboratorio, a pesar de que se conoce este agente desde hace casi medio siglo (consulte la sección B.7.b). Los criterios de elegibilidad se han seleccionado para garantizar la inmunocompetencia de los sujetos inscritos en el ensayo clínico propuesto de la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202. Además, las mujeres embarazadas están excluidas del desarrollo clínico de HB-201 y HB-202.

Se espera que la estabilidad genética de la atenuación de TheraT® (consulte la sección E.1) limite la propagación de estos vectores víricos a cualquier posible receptor mamífero no intencionado en el caso de exposición accidental (mediante el pinchazo con una aguja, manipulación de muestras de pacientes) o de diseminación viral de los pacientes tratados. En particular, no se prevé la propagación a ratones silvestres, el hospedador natural del VCL (cepa parental para HB-201) y a hámsters y cobayas que son susceptibles a la infección con VCL ts y PICV p18, (cepa parental para HB-202).

Se espera que el riesgo de que los vectores virales provoquen daños en caso de exposición accidental o de diseminación viral de los pacientes tratados siga siendo bajo también para los individuos vulnerables (es decir, los bebés, las mujeres embarazadas o en período de lactancia, las personas con una inmunodeficiencia significativa debido a una enfermedad subyacente y/o a la medicación) debido a la pequeña cantidad de OMG(s) a la que estarían potencialmente expuestos los individuos no tratados en contacto con los pacientes y al fenotipo genéticamente estable y atenuado de los vectores virales en comparación con su respectiva cepa parental ts.

Por lo tanto, el riesgo de transmisión de OMG de los pacientes tratados a otros seres humanos se considera bajo y se prevé que los efectos del HB-201 y/o del HB-202 se limiten a los sujetos tratados en el estudio clínico.

#### 4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: No está prevista ninguna medida de detección ambiental.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: No está prevista ninguna medida de detección directa de OMG en el medio ambiente. La posible presencia del OMG en las heces y los líquidos corporales (sangre, saliva, orina) de los pacientes tratados se evaluará mediante un ensayo de RCP cuantitativa de transcripción inversa (RCPc-TI).

### F. Información sobre la liberación

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

HB-201 y HB-202 se están desarrollando como terapia contra el cáncer dirigida a los cánceres VPH 16+. Actualmente se está investigando la seguridad, la tolerabilidad y la

eficacia de la monoterapia con HB-201 y de la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202 en pacientes  $\geq 18$  años de edad con cánceres VPH 16+ confirmados en el estudio HB-200-001 en EE.UU.

Este estudio de fase I de aumento de la dosis/expansión de dosis de fase II está diseñado para investigar la seguridad, la tolerabilidad y la eficacia de la monoterapia con HB-201 y de la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202. En el estudio se explorará la adición de un inhibidor del punto de control inmunitario (IPC) dirigido a la proteína de muerte celular programada 1 (PD-1) al régimen investigado. Se espera que este ensayo amplíe el número de participantes en determinados países de Europa.

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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese: HB-201 y HB-202 se liberarán en un hospital o una clínica. El VCL y su hospedador natural, el ratón doméstico, son autóctonos en todo el mundo, incluidos los países de la CE (consulte la respuesta a B (3) arriba), el PICV y su huésped natural, la rata de arroz montana, son autóctonos de Sudamérica (Buchmeier et al., 2007).</p>	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>La liberación se llevará a cabo en los siguientes centros del estudio clínico en España:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hospital Clinic de Barcelona (Villarroel, 170, 08036 Barcelona, España)</li> <li>- Hospital Universitari Vall d'Hebron (Passeig Vall d'Hebron, 119-129, 08035 Barcelona, Es-paña)</li> <li>- Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (C/ Mas Casanovas, 90, 08041 Barcelona, España)</li> <li>- Centro Integral Oncologico Clara Campal (Oña, 10, 28050 Madrid, España)</li> <li>- Hospital Universitario Fundacion Jimenez Diaz (Avda. Reyes Catolicos, 2, 28040 Madrid, Es-paña)</li> </ul>
<p>b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): No procede</li> <li>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): No procede</li> </ul>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>La liberación al medio ambiente de HB-201 y HB-202 no está prevista más allá del tratamiento de los sujetos del ensayo. El tratamiento debe administrarse en un centro sanitario autorizado, en régimen ambulatorio. No se prevé que los medicamentos en investigación HB-201 y HB-202 o cualquier residuo asociado a los procedimientos del estudio afecten al ecosistema circundante. Sin embargo, no se puede especificar la proximidad a biotopos o a zonas protegidas reconocidos internacionalmente (incluidos los depósitos de agua potable), ya que no se restringirá el movimiento de los sujetos tratados.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>HB-201 y HB-202 deben administrarse en un centro sanitario autorizado que limite la</p>

posibilidad de transferencia a la flora y la fauna. Se desconoce si los mammarenavirus son patógenos de las plantas o de cualquier otra especie no mamífera. Por consiguiente, para el HB-201 y el HB-202 no se esperan efectos en las plantas ni en las especies no mamíferas. En el peor de los casos, si el HB-201 y/o el HB-202 se propagan a roedores u otras especies de mamíferos como resultado de la diseminación del paciente tratado, se espera que el sistema inmunitario del hospedador elimine rápidamente el HB-201 y el HB-202 debido a su fenotipo de replicación atenuada y a la escasa cantidad con la que pueden entrar en contacto los animales en la naturaleza. Por tanto, el riesgo de impacto ambiental se considera bajo.

#### 4. Método y amplitud de la liberación

##### a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

La dosis inicial para la monoterapia con HB-201 es de  $5 \times 10^5$  VCR UFF. La dosis más alta de HB-201 que se propone administrar en el estudio clínico es de  $5 \times 10^8$  VCR UFF, aunque es posible que se añadan niveles de dosis modificados durante el transcurso del estudio.

La dosis humana inicial propuesta para la terapia alternada de dos vectores con HB 201 y HB-202 es HB-202 a una dosis de  $1 \times 10^6$  VCR UFF en régimen de alternancia secuencial con la dosis más elevada de HB-201 que se habrá determinado que es segura durante la monoterapia con HB-201.

Se espera que se inscriban en el estudio aproximadamente 200 pacientes  $\geq 18$  años de edad con cánceres VPH 16+ confirmados. Los ciclos de tratamiento se administrarán mientras el paciente los tolere, ya sea cada tres semanas, cada cuatro semanas o cada seis semanas, dependiendo de los grupos de tratamiento, con la suposición de un tiempo total de 6 meses con el fármaco del estudio.

El volumen de administración (en mililitros) de una dosis del fármaco del estudio estará determinado por el nivel de dosis previsto y la concentración del lote de fármaco del estudio asignado. El manual de farmacia proporciona detalles sobre el cálculo del volumen de HB-201 o HB-202 que debe utilizarse para la preparación y administración.

##### b. Duración de la operación: Consulte la sección F.4.a).

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

El material se considera no peligroso, de categoría B, para el transporte terrestre o aéreo.

- El VCL y el PICV no están catalogados como agentes de categoría A por la AITA.
- El patrón de enfermedad inducido no cumple los criterios de inclusión en la categoría A.

El transporte del material debe realizarse en contenedores cerrados, a prueba de fugas y resistentes a la rotura, forrados con material absorbente y etiquetados como “sustancia biológica, categoría B”, así como “UN 3373”, de acuerdo con el “Guidance Document Infectious Substances” de la Asociación Internacional de Transporte Aéreo (AITA)".



*Mitigación de riesgos para evitar una exposición accidental.  
Personal sanitario*

Todos los medicamentos en investigación se almacenarán de forma segura para evitar el acceso no autorizado, sólo se utilizarán para el ensayo clínico de acuerdo con el protocolo y todo el uso se documentará y contabilizará según los requisitos habituales de las buenas prácticas clínicas. El personal sanitario capacitado realizará todos los procedimientos del estudio en el centro del investigador exclusivamente, incluida la administración de HB-201 y HB-202. El análisis de las muestras se realizará en laboratorios locales y centrales.

Se han dado instrucciones a los centros para que sigan la respectiva hoja de datos de seguridad del material (HDS) para aplicar medidas que mitiguen el impacto de cualquier derrame o rotura durante la administración. Todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el HB-201 y/o el HB-202 deben ser eliminados como residuos biopeligrosos de acuerdo a los procedimientos de los centros hospitalarios.

- El personal que pueda entrar accidentalmente en contacto con el HB-201 o el HB-202 recibe instrucciones, a través de la hoja de datos de seguridad, de seguir las precauciones y los procedimientos del laboratorio y de utilizar el equipo adecuado de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL) cuando manipule material bajo contención BSL-2, que incluye:

- utilizar equipos de protección personal, incluidas gafas de seguridad, guantes, monos y otras prendas de protección.

- quitarse rápidamente la ropa contaminada.

- en caso de contacto con la piel mientras se manipula el HB-201 o el HB-202, usar desinfectante apropiado en las zonas afectadas si está disponible. Después, lavar las zonas afectadas con jabón y abundante agua. Obtener atención médica si se desarrolla irritación y esta persiste.

- en caso de heridas punzantes, cortes durante la manipulación de HB-201 o HB-202: si está disponible, usar un desinfectante apropiado en las áreas afectadas. Después, lavarse bien con agua y jabón. Dejar sangrar libremente. Llamar a un médico.

- en caso de derrames en los ojos durante la manipulación de HB-201 o HB-202: Lavar bien con solución salina apropiada o agua. Llamar a un médico.

- Los profesionales sanitarios han sido informados de que, dadas las características de HB-201 y HB-202, es posible que el/los fármaco(s) del estudio esté(n) presente(s) en el lugar de la inyección o en los líquidos corporales (como la orina, la sangre, la saliva, las heces). Por lo tanto, se aconsejan las siguientes precauciones generales:

- Se aconseja al personal investigador y del estudio que estén embarazadas o en período de lactancia o que tengan el sistema inmunitario debilitado (como los receptores de trasplantes de órganos, las personas seropositivas o las que reciban medicación inmunosupresora) que no administren ni preparen HB-201 y HB-202 ni entren en contacto directo con el/los lugar(es) de administración, los líquidos corporales u otras muestras (tejido, materia fecal, etc.) de los pacientes tratados con la monoterapia con HB-201 o con la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202.

- Se aconseja a los investigadores que, si es necesario colocar un apósito o cubrir la

zona de inyección después de la administración del fármaco del estudio, la zona de la inyección debe cubrirse y se deben realizar recomendaciones al paciente para la administración en la zona de inyección (p. ej., mantener las zonas de tratamiento cubiertas con vendajes herméticos e impermeables durante al menos 1 semana después de cada tratamiento o durante más tiempo si la zona de tratamiento supura o exuda; usar guantes mientras coloca o cambia los vendajes o mientras toca cualquier zona abierta o que drena en el cuerpo; volver a colocar vendas inmediatamente, si es necesario, con un apósito limpio si se aflojan, se sueltan o están expulsando fluidos corporales.).

- Se han dado instrucciones para que los centros apliquen medidas para mitigar el impacto de cualquier derrame o rotura durante la administración, como la debida capacitación del personal del centro y las instrucciones de la hoja de datos de seguridad para los primeros auxilios/las medidas de control para abordar la exposición y el contacto tras un derrame o rotura. Todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el medicamento deben ser eliminados como residuos biopeligrosos de acuerdo a los procedimientos de los centros hospitalarios.

- Los centros tienen instrucciones de gestionar los vertidos accidentales de acuerdo con las siguientes medidas:

- Derrames y fugas: Dejar que los aerosoles se asienten, usar ropa protectora, contener cualquier derrame y descontaminar usando una solución de hipoclorito de sodio (lejía) u otro desinfectante viricida. El volumen de lejía o desinfectante no debe ser inferior al 10 % del volumen del derrame. Dejar tiempo suficiente para la neutralización según el desinfectante elegido. Absorber el derrame utilizando materiales absorbentes adecuados para limpiarlo.

- Precauciones medioambientales: No permita que el producto entre en los desagües o en el caudal de residuos municipales sin una inactivación o descontaminación previa.

- Susceptibilidad a los desinfectantes: Se espera que los materiales biológicos recombinantes del VCL y PICV sean susceptibles a los desinfectantes habituales, como el hipoclorito de sodio, los aldehídos, el hidróxido de sodio, el formaldehído y el ácido peracético.

#### *Contacto estrecho con los pacientes*

Existen medidas preventivas para evitar la posible transmisión vertical de HB-201 o HB-202 según los criterios de elegibilidad definidos en el protocolo del estudio clínico, y se aplican medidas preventivas adicionales para evitar la transmisión a los contactos cercanos, en particular a los contactos cercanos vulnerables:

- Las pacientes que estén embarazadas, en período de lactancia o que planeen quedarse embarazadas durante el estudio no podrán participar en el ensayo clínico con la monoterapia con HB-201 o con la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202. En el ensayo clínico, las pacientes reúnen los requisitos si consienten en utilizar un método anticonceptivo altamente eficaz desde la firma del formulario de consentimiento informado (FCI) hasta cinco meses después de la última dosis del fármaco del estudio.

- Los pacientes varones son elegibles si aceptan el uso de anticonceptivos de barrera desde la firma del formulario de consentimiento informado (FCI) hasta cinco meses después de la última dosis del fármaco del estudio.

- Los pacientes deben aceptar abstenerse de donar esperma y óvulos desde la firma del formulario de consentimiento informado (FCI) hasta cinco meses después de la última dosis del fármaco del estudio. No se espera que los pacientes con cánceres avanzados VPH16+ tengan planeado donar un órgano sólido y deben abstenerse de tal procedimiento.

• Al firmar el formulario de consentimiento informado (FCI), los pacientes han sido informados de la posibilidad de que el fármaco del estudio pueda estar presente en el lugar de la inyección o en sus líquidos corporales (como la orina, la sangre, la saliva, las heces) y, por tanto, se les pide que:

○ Eviten la transferencia de líquidos corporales (como los besos en la boca) con los bebés, las mujeres embarazadas o en período de lactancia y las personas con sistemas inmunitarios debilitados (como los receptores de trasplantes de órganos, las personas seropositivas o las que reciben medicación inmunosupresora) desde el momento de la firma del formulario de consentimiento informado (FCI) hasta cinco meses después de recibir la última dosis de tratamiento del estudio. También hay que tener cuidado con el intercambio de saliva que puede producirse al compartir utensilios para comer, tazas o bebidas. Tenga un cuidado adecuado cuando utilice y limpie el baño y otros lugares en contacto con los fluidos corporales (p. ej., tire de la cisterna dos veces al ir al baño.; al limpiar el inodoro o cualquier fluido corporal use guantes y utilice un desinfectante, como lejía diluida [1 taza de lejía y 9 tazas de agua] cuando limpie las superficies en contacto con los fluidos corporales). Se aconseja a los pacientes que se pongan en contacto con el médico del estudio si tienen dudas al respecto.

○ Siguan las instrucciones de su médico sobre el cuidado del lugar de la inyección (p. ej., mantenga las zonas de tratamiento cubiertas con vendajes herméticos e impermeables durante al menos 1 semana después de cada tratamiento o durante más tiempo si la zona de tratamiento supura o exuda, use guantes mientras coloca o cambia los vendajes o mientras toca cualquier zona abierta o que drena en el cuerpo). Vuelva a colocar vendas inmediatamente, si es necesario, con un apósito limpio si se aflojan, se sueltan o están expulsando fluidos corporales.) Los pacientes deben evitar el contacto directo entre el lugar de la inyección o los materiales utilizados en el lugar de la inyección y los bebés, las mujeres embarazadas o en período de lactancia y las personas con sistemas inmunitarios debilitados. Los pacientes deben deshacerse de cualquier material utilizado para cubrir o limpiar el lugar de la inyección siguiendo las instrucciones de su médico (p. ej., colocar todos los apósitos utilizados, guantes y materiales de limpieza en una bolsa de plástico sellada y tirarlos a la basura a menos que su médico o personal de enfermería indique lo contrario).

○ Practiquen una buena higiene sanitaria (p. ej.: lavarse las manos) durante su participación en este ensayo hasta cinco meses después de recibir la última dosis de tratamiento del estudio. Utilice siempre guantes al cambiar los apósitos.

• En las instituciones donde se administrarán HB-201 y HB-202, los médicos y otros profesionales sanitarios han sido informados de que, dadas las características de HB-201 y HB-202, es posible que el fármaco del estudio esté presente en el lugar de la inyección o en los líquidos corporales (como la orina, la sangre, la saliva o las heces) y que, por tanto, se aconsejan las siguientes precauciones generales:

• Se aconseja al personal investigador y del estudio que estén embarazadas o en período de lactancia o que tengan el sistema inmunitario debilitado (como los receptores de trasplantes de órganos, las personas seropositivas o las que reciban medicación inmunosupresora) que no administren ni preparen HB-201 y HB-202 ni entren en contacto directo con el/los lugar(es) de administración, los líquidos corporales u otras muestras (tejido, materia fecal, etc.) de los pacientes tratados con la monoterapia con HB-201 o con la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202.

• Se aconseja a los investigadores que, si es necesario colocar un apósito o cubrir la zona de inyección después de la administración del fármaco del estudio, la zona de la

inyección debe cubrirse y se deben realizar recomendaciones al paciente para la administración en la zona de inyección (consulte la información para el paciente anteriormente mencionada).

- Los médicos y demás profesionales sanitarios han sido informados de las instrucciones que los pacientes recibieron durante el consentimiento informado (consulte la página anterior).

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

HB-201 y HB-202 se administrarán en los centros clínicos en una instalación cerrada a temperatura ambiente.

6. 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

No procede. Hasta la fecha no se ha completado ningún estudio clínico sobre el HB-201 o el HB-202.

**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):	No procede
iii) Género:	<i>Homo</i>
iv) Especie:	<i>Homo sapiens</i>
v) Subespecies:	No procede
vi) Cepa:	No procede
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	No procede
viii) Patovar:	No procede
ix) Nombre vulgar:	Ser humano

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

HB-201 y HB-202 se están desarrollando como terapia contra el cáncer dirigida a los tumores VPH 16+. Se espera que el tratamiento de pacientes con cánceres VPH16+ confirmados con monoterapia con HB-201 o con terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202 induzca una respuesta inmunitaria contra el VPH-16 así como contra el VCL y/o el PICV para la inducción eficaz de una potente respuesta de las células T dirigida contra las células tumorales del VPH 16+ (Schmidt et al., 2020, Bonilla et al., 2021).

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

No se prevén interacciones potencialmente significativas con otros organismos del medio ambiente.

**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: HB-201 y HB-202 son vectores virales atenuados y competentes para la replicación que no presentan ninguna ventaja competitiva con respecto al VCL ts y al PICV ts de los que derivan, ni el transgén codificado (proteína de fusión E7E6 sintética) les proporciona probablemente ninguna ventaja competitiva.		

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

HB-201 y HB-202 son lábiles y no sobreviven fuera de una célula hospedadora. El estudio se llevará a cabo en instalaciones sanitarias estándar y la administración se realizará por vía intravenosa o intratumoral directamente al sujeto del estudio. Se han dado instrucciones a los centros para que sigan la hoja de datos de seguridad y apliquen medidas para mitigar el impacto de cualquier derrame o rotura durante la administración. Todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el medicamento deben ser gestionados como residuo biopeligroso. Por lo tanto, no se prevé que la vacuna del estudio o cualquier residuo asociado a los procedimientos del estudio se distribuya o afecte al ecosistema circundante.

En el improbable caso de una exposición involuntaria de receptores no intencionados, no se espera que el HB-201 ni el HB-202 se propaguen ni que afecten a ningún ecosistema debido a la baja cantidad de vector viral que se espera que se disemine en los ecosistemas y a la replicación significativamente atenuada del HB-201 y el HB-202 en comparación con sus respectivas cepas parentales de tipo salvaje.

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

i) Orden y taxón superior (animales): <b>Primates</b>
ii) Familia (plantas): <b>No procede</b>
iii) Género: <b><i>Homo</i></b>
iv) Especie: <b><i>Homo sapiens</i></b>
v) Subespecie: <b>No procede</b>
vi) Cepa: <b>No procede</b>
vii) Cultivar/línea de reproducción: <b>No procede</b>
viii) Patovar: <b>No procede</b>
ix) Nombre vulgar: <b>Ser humano</b>

*Es posible que el personal del hospital esté expuesto por accidente y que la transmisión secundaria se produzca en los familiares de los pacientes (consulte la sección E.1.b). Como parte de las medidas de mitigación de riesgos, se excluirá de la realización del estudio al personal sanitario de los grupos vulnerables de riesgo, se han establecido medidas preventivas para evitar la posible transmisión vertical de HB-201 o HB-202 según los criterios de elegibilidad definidos en el protocolo del estudio clínico y se está instruyendo a los pacientes sobre las precauciones generales a fin de evitar la transmisión a los contactos cercanos, en particular a los contactos cercanos vulnerables (consulte la sección F.4.c).*

## 7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

### a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

Al igual que los arnavirus, HB-201 y HB-202 son vectores virales de ARN que se replican únicamente en el citoplasma celular y no se forma ningún intermediario de ADN durante el ciclo de replicación. La transferencia de material genético de HB-201 o HB-202 a seres humanos u organismos que no sean especies de roedores no se considera relevante para estos OMG, ya que no se sabe si las cepas parentales VCL ts y PICV ts se integran en el genoma de seres humanos u organismos que no sean especies de roedores. Fragmentos del genoma de VCL ts pueden integrarse ocasionalmente en especies de roedores que expresan retrotransposones. No se prevé que el HB-201 y el HB-202 se integren con mayor frecuencia en el genoma de los roedores que su cepa parental de tipo salvaje. Por lo tanto, el potencial de transferencia de genes a otras especies con la liberación propuesta del OMG es mínimo.

### b) De otros organismos al OMG:

Los eventos de recombinación entre virus de ARN de cadena negativa, como el VCL o el PICV, parecen producirse con una frecuencia muy baja en la naturaleza (Han y Worobey, 2011). No se prevé que las modificaciones genéticas introducidas para generar HB-201 y HB-202 den lugar a un aumento de la frecuencia de recombinación. La inhibición de la superinfección observada en las células infectadas por arnavirus reduciría aún más la posibilidad de transferencia de material genético por recombinación o reordenación intersegmentaria entre el HB-201 o el HB-202 y sus respectivas cepas parentales o entre el HB-201 y el HB-202 en los pacientes que reciben la terapia alternada de dos vectores.

### c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

En el caso de que se produjera un intercambio de materia genética entre el HB-201 o el HB-202 y sus respectivas cepas parentales, o entre el HB-201 y el HB-202 en los pacientes que reciben la terapia alternante de dos vectores, no hay ninguna razón para creer que el virus recombinante o reordenado resultante sea más patógeno que las respectivas cepas adaptadas al laboratorio o de tipo salvaje, por lo que la probabilidad de que surjan formas reordenadas o recombinantes y de que estos hipotéticos vectores virales híbridos causen daños se considera insignificante en base a los datos experimentales.

## 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.)

No se han realizado estudios específicos sobre el impacto ecológico del HB-201 o del HB-202 en entornos naturales simulados. Los estudios realizados en roedores durante el programa de desarrollo preclínico han demostrado que la replicación de HB-201 y HB-202 está significativamente atenuada en comparación con su respectiva cepa parental (Schmidt et al., 2020, Bonilla et al., 2021).

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

No se prevé que HB-201 y HB-202 tengan ninguna interacción con los procesos biogeoquímicos.



## **H. Información sobre el seguimiento**

### **1. Métodos de seguimiento de los OMG**

Los pacientes que participen en el ensayo clínico serán supervisados para detectar la presencia de OMG en sangre y la diseminación del OMG en saliva, orina y heces mediante un ensayo de RCPc-TI que cuantifica las copias del ARN de la nucleoproteína (NP) del VCL y del ARN de la NP del PICV, respectivamente. La infectividad potencial del material excretado en las muestras de orina y saliva se evaluará mediante un ensayo de replicación.

### **2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema**

No está previsto, ya que se espera que HB-201 y HB-202 no tengan ningún efecto en los ecosistemas.

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

No está previsto, ya que la transferencia del inserto E7E6 de HB-201 o HB-202 a otros organismos es poco probable (consulte la sección G.7.a).

### **4. Tamaño del área de seguimiento (m<sup>2</sup>)**

No procede.

### **5. Duración del seguimiento**

Los pacientes que participen en el ensayo clínico deberán ser supervisados para detectar la presencia de OMG en la sangre y la diseminación de OMG en la saliva, la orina y las heces en cada ciclo de tratamiento, en la visita de finalización del tratamiento y en la visita de seguimiento de seguridad a los 30 días, hasta que se hayan recopilado suficientes datos de seguridad. El seguimiento de los pacientes con diseminación vírica persistente puede ampliarse tras el final del tratamiento. Los momentos exactos de la recogida de muestras para la diseminación del vector viral y el vector viral en la sangre se definen en el calendario de evaluaciones del protocolo.

A discreción del promotor, si los resultados de la diseminación del vector viral (p. ej.: en la saliva, las heces, la sangre y la orina) son negativos o están por debajo del límite de detección después de que el paciente haya recibido al menos tres dosis del régimen del fármaco del estudio (por ejemplo, monoterapia con HB-201 o terapia alterna de dos vectores con HB-201 y HB-202), las evaluaciones de la diseminación del vector viral pueden interrumpirse con la aprobación del investigador.

### **6. Frecuencia del seguimiento**

Consulte la sección H.5.

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

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

Se han dado instrucciones a los centros para que sigan la hoja de datos de seguridad y apliquen medidas para mitigar el impacto de cualquier derrame o rotura durante la administración. Todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el medicamento deben ser eliminados como residuos biopeligrosos.

Se instruye a los centros a través de la hoja de datos de seguridad para que sigan las precauciones y los procedimientos del laboratorio y utilicen el equipo adecuado de acuerdo con las BPL cuando manipulen material bajo contención BSL-2 y para que gestionen las liberaciones accidentales de acuerdo con las siguientes medidas:

- Derrames y fugas: dejar que los aerosoles se asienten, usar ropa protectora, contener cualquier derrame y descontaminar usando una solución de hipoclorito de sodio (lejía) u otro desinfectante viricida. El volumen de lejía o desinfectante no debe ser inferior al 10 % del volumen del derrame. Dejar tiempo suficiente para la neutralización según el desinfectante elegido. Absorber el derrame utilizando materiales absorbentes adecuados para limpiarlo.
- Precauciones medioambientales: no permitir que el producto entre en los desagües o en el flujo de residuos municipales sin inactivarse o descontaminarse.
- Susceptibilidad a los desinfectantes: se espera que el material biológico recombinante de VCL y PICV sea susceptible a los desinfectantes comunes, como el hipoclorito de sodio, los aldehídos, el hidróxido de sodio, el formaldehído y el ácido peracético.

## 2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Los centros tienen instrucciones de que todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el medicamento deben ser eliminados como residuos biopeligrosos.

### 3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los tipos de residuos generados incluirán viales vacíos, viales usados con producto residual y los componentes usados del sistema de administración (aguja de inyección y jeringa); gasas y equipo de protección personal (guantes, batas de laboratorio, monos); componentes utilizados para la recogida de muestras de líquidos corporales para su análisis en los laboratorios locales y centrales; y residuos médicos de los participantes en el estudio.

Se calcula que se producirán unos 50 kg de residuos por paciente, incluidos los residuos médicos y los análisis de muestras en los laboratorios locales y centrales.

### 3. (b) Tratamiento de residuos

Todo el producto no utilizado, los envases contaminados y los materiales utilizados para preparar y administrar el medicamento deben ser eliminados como residuos biopeligrosos.

## 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

Se aplicarán varias medidas en los centros para mitigar el impacto de cualquier derrame o rotura durante la administración en los centros, incluida la debida capacitación del personal del centro y los primeros auxilios y medidas de control para abordar la exposición y el contacto tras el derrame o la rotura (consulte la sección F.4.c)

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

Al igual que sus cepas parentales ts, se espera que HB-201 y HB-202 sean susceptibles a los desinfectantes habituales, como el hipoclorito de sodio, los aldehídos, el hidróxido de sodio, el formaldehído y el ácido peracético.

En el caso de un incidente de derrame o fuga, permita que los aerosoles se asienten, contenga cualquier derrame y descontamine de acuerdo con las medidas y procedimientos descritos en la hoja de datos de seguridad (consulte la sección F.4.c).

Si está contaminado, cambie el equipo de protección personal (bata, guantes, protección ocular) y deshágase de él según lo indicado en la sección I.2.b).

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

No procede. No será necesaria la descontaminación de plantas, animales (no humanos) o suelos.

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

El lanzamiento propuesto de la monoterapia con HB-201 o de la terapia de dos vectores con HB-201 y HB-202 se limita a aproximadamente 200 pacientes  $\geq 18$  años de edad, con cánceres VPH 16+ confirmados. La administración del tratamiento debe ser realizada por un profesional sanitario en un hospital o centro de salud. Como se ha descrito anteriormente, se han establecido amplios controles de procedimiento para el transporte, el almacenamiento, la administración, la eliminación y la supervisión de la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202 durante la duración del estudio clínico.

Se espera que la naturaleza y la estabilidad genética demostrada de la atenuación de TheraT® limiten la propagación de estos OMG en el medio ambiente, en particular a los ratones silvestres, el hospedador natural del VCL (cepa parental para el HB-201) y a los hámsters y cobayas que son susceptibles a la infección con el VCL ts y el PICV p18, (cepa parental para el HB-202) y también se anticipa que limitarán la propagación a cualquier otro posible receptor mamífero no intencionado en el caso de liberación no intencionada o de diseminación de los pacientes tratados. Se han puesto en marcha estrategias de mitigación apropiadas para recopilar más información sobre la seguridad y el perfil de diseminación del vector viral de la monoterapia con HB-201 y la terapia de dos vectores con HB-201 y HB-202, antes de su desarrollo posterior (a mayor escala). El riesgo de formación de vectores virales quiméricos en los pacientes que reciben la terapia alternada de dos vectores con HB-201 y HB-202 se considera bajo en base a los datos experimentales.

## REFERENCIAS

Bonilla, W. V., N. Kirchhammer, A. F. Marx, S. M. Kallert, M. A. Krzyzaniak, M. Lu, D. S., S. Schmidt, J. Raguz, U. Berka, I. Vincenti, M. Pauzuolis, R. Kerber, S. Hoepner,

- S. Günther, C. Magnus, D. Merkler, K. K. Orlinger, A. Zippelius and D. D. Pinschewer (2021). "Heterologous arenavirus vector prime – boost overrules self-tolerance for efficient tumor-specific CD8 T cell attack." *Cell Reports Medicine* 2(3): 100209.
- Bonthius, D. J. (2012). "Lymphocytic choriomeningitis virus: an underrecognized cause of neurologic disease in the fetus, child, and adult." *Semin Pediatr Neurol* 19(3): 89-95.
- Brisse, M. E. and H. Ly (2019). "Hemorrhagic Fever-Causing Arenaviruses: Lethal Pathogens and Potent Immune Suppressors." *Front Immunol* 10: 372.
- Buchmeier, M., E. Adam and W. E. Rawls (1974). "Serological evidence of infection by Pichinde virus among laboratory workers." *Infect Immun* 9(5): 821-823.
- Buchmeier, M. J., J. C. de la Torre and C. J. Peters (2007). Arenaviridae: the viruses and their replication. Fields Virology. D. M. Knipe and P. M. Howley. Philadelphia Lippincott-Raven: 1791-1828.
- Cassetti, M. C., S. P. McElhiney, V. Shahabi, J. K. Pullen, I. C. Le Poole, G. L. Eiben, L. R. Smith and W. M. Kast (2004). "Antitumor efficacy of Venezuelan equine encephalitis virus replicon particles encoding mutated HPV16 E6 and E7 genes." *Vaccine* 22(3-4): 520-527.
- Fischer, S. A., M. B. Graham, M. J. Kuehnert, C. N. Kotton, A. Srinivasan, F. M. Marty, J. A. Comer, J. Guarner, C. D. Paddock, D. L. DeMeo, W. J. Shieh, B. R. Erickson, U. Bandy, A. DeMaria, Jr., J. P. Davis, F. L. Delmonico, B. Pavlin, A. Likos, M. J. Vincent, T. K. Sealy, C. S. Goldsmith, D. B. Jernigan, P. E. Rollin, M. M. Packard, M. Patel, C. Rowland, R. F. Helfand, S. T. Nichol, J. A. Fishman, T. Ksiazek, S. R. Zaki and L. i. T. R. I. Team (2006). "Transmission of lymphocytic choriomeningitis virus by organ transplantation." *N Engl J Med* 354(21): 2235-2249.
- Grande-Perez, A., V. Martin, H. Moreno and J. C. de la Torre (2016). "Arenavirus Quasispecies and Their Biological Implications." *Curr Top Microbiol Immunol* 392: 231-276.
- Han, G. Z. and M. Worobey (2011). "Homologous recombination in negative sense RNA viruses." *Viruses* 3(8): 1358-1373.
- Jahrling, P. B., R. A. Hesse, J. B. Rhoderick, M. A. Elwell and J. B. Moe (1981). "Pathogenesis of a pichinde virus strain adapted to produce lethal infections in guinea pigs." *Infect Immun* 32(2): 872-880.
- Kallert, S. M., S. Darbre, W. V. Bonilla, M. Kreutzfeldt, N. Page, P. Muller, M. Kreuzaler, M. Lu, S. Favre, F. Kreppel, M. Lohning, S. A. Luther, A. Zippelius, D. Merkler and D. D. Pinschewer (2017). "Replicating viral vector platform exploits alarmin signals for potent CD8(+) T cell-mediated tumour immunotherapy." *Nat Commun* 8: 15327.
- Schmidt, S., W. V. Bonilla, A. Reiter, F. Stemeseder, T. Kleissner, D. Oeler, U. Berka, A. ElGazzar, B. Kiefmann, S. C. Schulha, J. Raguz, M. Habbidine, M. Scheinost, Q. Xiaoping, H. Lauterbach, I. Matushansky, D. D. Pinschewer and K. K. Orlinger (2020). "Live-attenuated lymphocytic choriomeningitis virus-based vaccines for active immunotherapy of HPV16-positive cancer." *Oncimmunology* 9(1): 1809960.

Trapido, H. and C. Sanmartin (1971). "Pichinde virus, a new virus of the Tacaribe group from Colombia." *Am J Trop Med Hyg* 20(4): 631-641.

Welsh, R. M. and M. O. Seedhom (2008). "Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV): propagation, quantitation, and storage." *Curr Protoc Microbiol* Chapter 15: Unit 15A 11.

Wieking, B. G., D. W. Vermeer, W. C. Spanos, K. M. Lee, P. Vermeer, W. T. Lee, Y. Xu, E. S. Gabitzsch, S. Balcitis, J. P. Balint, Jr., F. R. Jones and J. H. Lee (2012). "A non-oncogenic HPV 16 E6/E7 vaccine enhances treatment of HPV expressing tumors." *Cancer Gene Ther* 19(10): 667-674.