

**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/23/12
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	10 de mayo de 2023
d) Título del proyecto:	Estudio de fase II, sin enmascaramiento y multicéntrico en el que se investiga el uso de RP3 junto con otros tratamientos en pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello locorregionalmente avanzado o recidivante
e) Período propuesto para la liberación:	De agosto de 2023 a mayo de 2028

**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	<input type="checkbox"/>

- 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:** RP3 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 ahCTLA-4 y GALV-GP-R insertado en lugar de los genes eliminados ICP34.5. Se introdujeron transgenes adicionales que codifican los ligandos CD40 y 4-1BB humanos (hCD40L y h4-1BBL) en la región UL 50/51 para mejorar la inmunidad antitumoral y la formación de memoria inmunológica.

RP3 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 RP3 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 RP3 constituye para las personas y el medioambiente es de Bajo a Insignificante.

Teniendo en cuenta el perfil de seguridad enormemente mejorado de RP3 en comparación con el VHS-1 de tipo silvestre, la evaluación realizada por Replimune para RP3 clasifica a este OMG en el Grupo de Riesgo 1, ya que la delección de ICP34.5 implica que RP3 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 RP3 en el Grupo de Riesgo 1, ya que hay poca probabilidad de que provoque enfermedad en humanos.

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 RP3 provoquen un genotipo inestable.

Durante la construcción de RP3, se eliminaron los genes ICP34.5 e ICP47 de RH018 y se insertaron los genes que codifican GALV-GP-R- y ahCTLA-4 en la región de delección de ICP34.5. Se insertaron hCD40L y h4-1BBL en la región UL 50/51. Se llevó a cabo una secuenciación del genoma completo (SGC) con material de RP3 derivado del pre-MVSS de RP3 y el material de cosecha general del MVSS de RP3 y se comparó con la secuencia esperada, que consistía en la secuencia de la cepa del VHS-1 (RH018A) con las secuencias de plásmido utilizadas en la construcción de RP3. La homología global entre ambas secuencias fue del 99,3 %. La mayoría de las diferencias observadas se atribuyeron a inserciones/delecciones de nucleótidos individuales en cadenas largas de un único nucleótido, normalmente bases G o C, y se debían a secuencias repetitivas cortas que se repiten un número diferente de veces entre las secuencias del pre-MVSS o MVSS y la secuencia de referencia. En resumen, se observaron las secuencias esperadas para todas las regiones modificadas del pre-MVSS y el MVSS de RP3, confirmándose que las secuencias codificadoras de los genes de GALV-GP-R-, ahCTLA-4, hCD40L y h4-1BBL eran correctas, lo que indica que se fabricarían las proteínas exactas. Todas las secuencias de promotor y señal de poliadenilación asociadas eran igualmente correctas, confirmándose que eso no tendría ninguna repercusión en la expresión proteica. No se observaron reordenamientos genómicos a gran escala y se confirmó la delección ICP47.

Puesto que la PCR es el método más sensible y específico para el diagnóstico en laboratorio de la infección por el VHS (96 % de sensibilidad y 99 % de especificidad para el VHS-1 (Whitley 1998), se realiza un ensayo de identidad mediante qPCR de cada lote clínico para confirmar la presencia del genes ahCTLA-4, GALV-GP-R-, hCD40L, y h4-1BBL.

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: FR, DE, IT, CZ, EL, and 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"/>
ES (B/ES/22/07), FR, EL, and PL (EudraCT 2020-002870-29)	

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: RU y EE. UU. Número de la notificación: Reino Unido (EudraCT 2020-002870-29) y Estados Unidos (IND 028278)	

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, RP3 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. RP3 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, (especifíquense):

## 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

No

No se sabe

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

#### 4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

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](#)).

El VHS-1 no infecta especies acuáticas (plantas, invertebrados y vertebrados) ni terrestres (plantas e invertebrados).

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:

No procede

#### 5. a) Técnicas de detección

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 1998](#)).

#### 5. b) Técnicas de identificación

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

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"/>
<p>En caso afirmativo</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:</p> <p>humanos <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>animales <input type="checkbox"/></p> <p>plantas <input type="checkbox"/></p> <p>otros <input type="checkbox"/></p> <p>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.</p> <p>La patogenicidad del VHS-1 de tipo silvestre se describe en la <a href="#">Tabla 1</a>.</p>		

**Tabla 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)

Patogenicidad	Descripción
	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 and Pavan-Langston 2006).
Encefalitis	Infecciones graves del SNC, que afectan tanto a niños como a adolescentes (Whitley 2006). Pueden 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 and et al. 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.

### b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:

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 and et al. 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.

### c) Modo de reproducción

Sexual

Asexual

### d) Factores que afectan a la reproducción:

El VHS-1 de tipo silvestre, es extremadamente susceptible a la deshidratación, y se inactiva fácilmente fuera de su huésped (Baldo et al. 2013).

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 and Behbehani 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 and Behbehani 1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood and Payne 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 and 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](#)).

## 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 (especifíquense): 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  $\text{pH} < 4$ , temperaturas  $> 56^\circ\text{C}$  durante 30 minutos, pasterización ( $60^\circ\text{C}$  durante 10 horas), y calentamiento mediante microondas durante 4 minutos ([Croughan and Behbehani 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  $\mu\text{l/l}$ ) de lejía en 10 minutos; y alcohol (mezclas 1:1) ([Croughan and Behbehani 1988](#)). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario ([Wood and Payne 1998](#)). La mayoría de los herpesvirus también son sensibles a etanol e isopropanol al 30 %, fenol ortofenólico al 0,12 % y glutaraldehído al 0,04 % ([Prince and 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 and et al. 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 and et al. 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 and et al. 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

RP3 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- $\alpha/\beta$ ) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores. El objetivo de la delección de ICP47 en RP3 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 RP3 también conlleva un aumento en la expresión de la proteína viral US11 (Mohr and et al. 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 et al. 2001). El virus contiene asimismo las secuencias codificadoras de GALV-GP-R-, ahCTLA-4, hCD40L y h4-1BBL.

El propósito de utilizar la glicoproteína de envoltura fusogénica del virus de la leucemia del gibón truncada (GALV-GP-R-) es mejorar la diseminación del virus por el tumor (Bateman et al. 2000; Bateman et al. 2002; Errington et al. 2006). La expresión de GALV-GP-R- está controlada por el promotor RSV LTR. Los datos preclínicos publicados han demostrado los beneficios de la expresión de GALV-GP-R- para el tratamiento de tumores en modelos de roedores, inclusive cuando se expresa a partir de un VHS con capacidad de replicación selectiva (Simpson et al. 2006; Simpson et al. 2012).

RP3 expresa una secuencia con codones optimizados para una molécula similar a anticuerpo contra el antígeno 4 humano asociado a linfocitos T citotóxicos (anti-CTLA-4) que interfiere con la interacción de CTLA-4 (expresado en un subconjunto de linfocitos T activados) con moléculas B7 (CD80/CD86) de células presentadoras de antígenos profesionales. Eso debería traducirse en una mayor activación de los linfocitos T al bloquearse la inhibición de otro modo mediada por la interacción CTLA-4/B7. La idea es que la mayor activación, proliferación e infiltración en tumores de los linfocitos T antitumorales resultante dé lugar a efectos antitumorales locales y sistémicos mejorados. Cabría esperar también que la expresión intratumoral de la molécula similar a anticuerpo ahCTLA-4 redujera la toxicidad en comparación con la administración sistémica de un anticuerpo ahCTLA-4 como la aprobada por ejemplo para el tratamiento de melanomas bien como monoterapia (ipilimumab) o en combinación con nivolumab (un anticuerpo anti-PD-1) (Andtbacka 2016; Puzanov et al. 2016).

CD40L es una proteína que se expresa principalmente en linfocitos T activados y pertenece a la superfamilia de moléculas TNF. Se une al cúmulo de diferenciación 40 (CD40) de las células presentadoras de antígenos. CD40L puede potenciar la apoptosis de las células tumorales mediante la activación de las vías del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), AP-1, CD95 o dependientes de caspasas y estimular la

inmunidad del huésped para defenderse frente al cáncer (Korniluk, Kemon, and Dymicka-Piekarska 2014). Están en curso varios ensayos clínicos en los que se utiliza CD40L, entre ellos uno de inmunoterapia combinada consistente en una vacuna con células cancerosas inactivadas junto con GM-CSF, CD40L y CCL21 para el cáncer de pulmón (NCT01433172) y otro de un adenovirus modificado que expresa CD40L y 4-1BBL para cáncer de páncreas, biliar, colorrectal o de ovarios (NCT03225989).

El 4-1BBL humano se encuentra asimismo en las células presentadoras de antígenos y se une a h4-1BB, un receptor de glicoproteínas transmembrana de tipo 2 perteneciente a la superfamilia TNF que se expresa en linfocitos T activados, particularmente los CD8, e induce la secreción de niveles altos de IFN- $\gamma$  mediante su unión a la proteína 4-1BB. Se ha observado que 4-1BBL inhibe el desarrollo tumoral en distintos estudios *in vivo* (Vinay and Kwon 2012). Están en curso varios ensayos clínicos en los que se utiliza 4-1BBL, así como una vacuna obtenida a partir de una línea celular con niveles altos de expresión de antígenos asociados a melanoma que expresa tanto HLA-A02 como 4-1BBL (lo que se conoce como A2/4-1BBL) para el melanoma (NCT01898039).

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 ahCTLA-4	
- inserción de hCD40L	
- inserción de h4-1BBL	
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 ahCTLA-4 controlada por el promotor del citomegalovirus humano (hCMV) y secuencias de poliadenilación
- inserción de hCD40L controlada por el promotor de repetición terminal larga del virus de la leucemia murina de Moloney (MMLV) y secuencias de poliadenilación
- inserción de h4-1BBL controlada por el promotor del citomegalovirus murino (mCMV) y secuencias de poliadenilación

### b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

Homo sapiens

### c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG

- Deleción de ICP34.5: La deleción 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- $\alpha/\beta$ ) 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 et al. 2011](#)).
- Deleción de ICP47: el objetivo de la eliminación de ICP47 en RP3 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 RP3 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 deleción de ICP34.5 en tumores, sin pérdida de la selectividad para el tumor ([Mohr et al. 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 ahCTLA-4: permite la producción de una molécula similar a anticuerpo contra el antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos que interfiere con la interacción entre el CTLA-4 de los linfocitos T y las moléculas B7 de células presentadoras de antígenos profesionales, actuando por tanto como antagonista frente al punto de control inmunitario regulador negativo de los linfocitos T.
- Inserción de hCD40L: se une a CD40 en las células presentadoras de antígenos. Se expresa en linfocitos T activados y actúa como molécula coestimuladora. Es importante para la maduración de los linfocitos B. CD40L puede potenciar la apoptosis de las células tumorales mediante la activación de las vías del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), AP-1, CD95 o dependientes de caspasas y estimular la inmunidad del huésped para defenderse frente al cáncer (Korniluk, Kemon, and Dymicka-Piekarska 2014).
- Inserción de h4-1BBL: estimula los linfocitos T activados, particularmente los CD8, e induce la secreción de niveles altos de IFN- $\gamma$  mediante su unión a la proteína 4-1BB. Se ha observado que 4-1BBL inhibe el desarrollo tumoral en distintos estudios *in vivo* (Vinay and Kwon 2012).

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense): Integrado dentro del genoma del VHS-1

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 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"/>

Especifíquese:

RP3 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) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

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 1 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.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

La delección de ICP34.5 presente en RP3 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- $\alpha/\beta$ ) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores.

El objetivo de la delección de ICP47 en RP3 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.

## 2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

No es posible que RP3 restaure espontáneamente la patogenicidad mediante, por ejemplo, la recuperación de ICP34.5, ya que ICP34.5 no está presente en RP3.

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 RP3 y VHS-1 de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP3 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 RP3 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP3 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP3 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 RP3 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 RP3 y el VHS-1 de tipo silvestre se daría desde o hasta la misma ubicación genética. El casete de expresión GALV-GP-R-/ahCTLA-4 que hay en RP3 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 RP3 (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.

La estrategia terapéutica con RP3 es inducir una destrucción «oncolítica» directa por parte del virus de los tumores, aumentada mediante la expresión de GALV-GP-R-. ahCTLA-4 mejora los efectos antitumorales locales y sistémicos. La introducción de las cuatro secuencias codificadoras en RP3 mejora la inmunidad antitumoral y la formación de memoria inmunológica. RP3 está previsto para su inyección directa en tumores sólidos no neurológicos y se espera que tenga una actividad terapéutica potente cuando se combina con agentes de bloqueo de puntos de control inmunitario como los dirigidos a PD-1/PD-L1.

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-GP-R-, ahCTLA-4, hCD40L, y h4-1BBL con la secuencia esperada dentro del genoma RP3.

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

<p>a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:</p> <p>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 1998)). Se ha desarrollado un ensayo de qPCR para identificar el rHSV-1/GALV-GP-R-/ahCTLA-4/hCD40L/h4-1BBL (RP3).</p>
<p>b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:</p> <p>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-GP-R-, ahCTLA-4, hCD40L, y h4-1BBL con la secuencia esperada dentro del genoma RP3.</p>

## F. Información sobre la liberación

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

<p>El propósito de la liberación es llevar a cabo un estudio de fase II, de dos cohortes (localmente avanzado [LA] y recurrente/metastásico [R/M]) para evaluar si RP3 puede ser más eficaz cuando se combina con otras terapias utilizadas habitualmente para el tratamiento del carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (SCCHN) seguido de terapia anti-PD1 para pacientes con SCCHN LA, o combinado con quimioterapia y terapia anti-PD1 (para la cohorte R/M) en pacientes con SCCHN R/M. En la cohorte LA, los pacientes se aleatorizarán (1:1) a uno de los dos grupos de tratamiento: quimiorradioterapia simultánea (CCRT) combinada con RP3 seguida de nivolumab (grupo experimental) o a CCRT sola (grupo de control).</p>
---

Los pacientes con SCCHN R/M con PD-L1 CPS <20 que no hayan recibido tratamiento sistémico para la metástasis a distancia se incluirán en una cohorte abierta y no aleatorizada (denominada cohorte R/M) en la que se evaluará el uso de RP3 (n = 30) en combinación con quimioterapia y nivolumab. Al menos 10 de estos pacientes deben tener PD-L1 CPS <1. Para España, se solicita autorización de inscripción.

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"/>
En caso afirmativo, especifíquese: El lugar de liberación serán centros médicos (es decir, los centros del estudio), donde los sujetos recibirán RP3 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 Universitario Vall d'Hebron, Instituto de Oncología Vall d'Hebron Fundacion Instituto Valenciano De Oncologia Hospital Universitario HM SanchinarroLa Paz Univeristy Hospital Clínica Universidad de Navarra
b) Área del lugar (m <sup>2</sup> ):  i) lugar real de la liberación (m <sup>2</sup> ):  ii) área de liberación más amplia (m <sup>2</sup> ):  El tamaño de cada centro varía, no obstante, en el lugar donde tendrá lugar la administración de RP3, se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:  Se prevé utilizar RP3 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 RP3 a terceros. La exposición de los biotipos, 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 biotipos se vean afectados.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

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 et al. 2013). RP3 (rHSV-1/GALV-GP-R-/ahCTLA-4/hCD40L/h4-1BBL) 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.

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

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

##### Cantidad estimada de RP3

Cantidad estimada de RP3 que se va a liberar

Cohorte LA				
Dosis	Volumen/dosis	Volumen de dosis/paciente	Total de pacientes	Cantidad total prevista
1 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml	1 ml/vial	10 ml	3	3 x 10 <sup>7</sup> UFP/30 ml
1 x 10 <sup>7</sup> UFP/ml	1 ml/vial	30 ml	3	9 x 10 <sup>8</sup> UFP/90 ml
Cohorte R/M				
Dosis	Volumen/dosis	Volumen de dosis/paciente	Total de pacientes	Cantidad total prevista
1 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml	1 ml/vial	10 ml	3	3 x 10 <sup>7</sup> UFP/30 ml
1 x 10 <sup>7</sup> UFP/ml	1 ml/vial	70 ml	2	2,1 x 10 <sup>9</sup> UFP/210 ml
Estimación global de la cantidad de RP3				3,06 x 10 <sup>9</sup> UFP/360 ml

Ejemplo de cálculo de la cantidad prevista total:

1 x 10<sup>6</sup> UFP/ml (dosis) x 1 ml (volumen por dosis) x 10 ml (dosis por paciente) x 3 (total de pacientes) = 3 x 10<sup>7</sup> UFP

Ejemplo de cálculo de la cantidad total del volumen de dosis:

10 ml (volumen de dosis por pacientes) x 3 (total de pacientes) = 30 ml

Ejemplo cálculo de la estimación global:

3 x 10<sup>7</sup> UFP/30 ml + 9 x 10<sup>8</sup> UFP/90 ml + 3 x 10<sup>7</sup> UFP/30 ml + 2,1 x 10<sup>9</sup> UFP/210 ml = 3,06 x 10<sup>9</sup> UFP/360 ml .

b. Duración de la operación:

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.

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 RP3 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 RP3 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP3 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 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, RP3 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. RP3 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP3 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

El primer producto de Replimune (RP1) se construyó utilizando un nuevo aislado del VHS-1 (cepa RH018) que se modificó mediante la delección del virus de los genes que codifican las proteínas ICP34.5 y ICP47. ICP34.5 es el «factor de neurovirulencia» e ICP47 inhibe la presentación antigénica en células infectadas por el VHS. RP1 contiene un casete de expresión que contiene un gen que codifica el GM-CSF humano y un gen que codifica GALV-GP-R-.

El segundo producto de Replimune (RP2) es similar a RP1 salvo en que incluye adicionalmente un gen que codifica una molécula similar a anticuerpo anti-hCTLA-4-.

RP3 incluye modificaciones adicionales con respecto a RP2, habiéndose eliminado el gen del GM-CSF e incorporado adicionalmente los transgenes que codifican hCD40L y h4-1BBL, que conjuntamente se espera que den lugar a una mejor inmunidad antitumoral y formación de memoria inmunológica.

El primer y segundo producto de Replimune (RP1 y RP2) ha sido asimismo bien tolerado por los pacientes tratados hasta la fecha dentro del estudio clínico en fase temprana en pacientes con tumores sólidos avanzados. No ha habido ningún indicio de transmisión de RP1 o RP2 a trabajadores sanitarios ni contactos estrechos de los pacientes tratados con RP1 o RP2; incluso si tal transmisión llegara a darse, no sería de esperar que provocara signos ni síntomas clínicos teniendo en cuenta que RP1 o RP2 está desactivado y no es capaz de replicarse de forma productiva salvo en los tumores. No se espera que los patrones de biodistribución y excreción de RP3 sufran cambios por la eliminación del gen del GM-CSF y la presencia adicional de los transgenes de hCD40L y h4-1BBL.

Mientras se están evaluando datos de pacientes correspondientes a RP3, se han evaluado la biodistribución y la excreción de RP3 dentro de un programa no clínico. Los resultados de un estudio de administración de dosis repetidas de RP3 por vía intratumoral en dosis de hasta  $2,5 \times 10^6$  UFP/ratón ( $12,5 \times 10^7$  UFP/kg) indican que es bien tolerado en este modelo de tumor, sin que se observaran mortalidad ni efectos adversos significativos.

El análisis de los datos de biodistribución indica que, tras su administración IT, el virus mRP3 queda retenido en el tumor y la piel circundante. No se observó una distribución significativa a otros tejidos, viéndose únicamente un número bajo de copias del virus (<50 copias del virus mRP3/μg de ácido desoxirribonucleico [ADN]) a la dosis más alta administrada en un pequeño número de tejidos (de glándulas suprarrenales, hígado, ganglios linfáticos inguinales, médula espinal cervical y nervio mediano) en puntos temporales tempranos (24 horas y una semana después de la última dosis). Se obtuvieron otros resultados positivos con un número bajo de copias de mRP3 en muestras de orina (solo IT) a las 24 horas y 1 semana después de la última dosis; no obstante, todas las muestras renales fueron negativas. Los resultados para epidídimo, testículos, ovarios y cerebro fueron todos negativos en cuanto al virus mRP3 en todos los puntos temporales estudiados (hasta 12 semanas después de la última dosis). Se observó un patrón de distribución del virus similar tras la administración subcutánea.

Se ensayaron muestras obtenidas mediante hisopo para evaluar la excreción del virus mRP3 hasta 1 semana después de la última dosis. Las muestras fueron todas negativas de forma sistemática en cuanto a la detección de mRP3 a excepción del hisopo de un único lugar de inyección a las 24 horas de la última dosis, que fue negativo 1 semana después de la última dosis.

En conjunto, mRP3 se detectó principalmente en el tumor A20, en el lugar de inyección y en piel distal al lugar de inyección. Los niveles detectados en muestras tumorales son indicativos de replicación del virus.

**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)

RP3 (rHSV-1/GALV-GP-R-/ahCTLA-4/hCD40L/h4-1BBL) es un VHS-1 de replicación selectivamente competente. El virus contiene una secuencia con codones optimizados para GALV-GP R- y sequence for a single chain antibody-like molecule to human cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (ahCTLA-4), hCD40L y h41-BBL.

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 RP3 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.

La expresión de una molécula similar a un anticuerpo ahCTLA-4 interfiere con la interacción de CTLA-4 (expresado en un subconjunto de células T activadas) con B7 (CD80 / CD86) moléculas en células presentadoras de antígeno profesionales. Esto tiene la intención de resultar en activación mejorada de las células T debido al bloqueo de la inhibición mediada de otro modo por la interacción CTLA-4 / B7. La activación mejorada de células T antitumorales resultante, proliferación e infiltración de linfocitos en los tumores, está destinada a conducir a efectos antitumorales locales y sistémicos mejorados. Expresión intratumoral del También se esperaría que la molécula similar a un anticuerpo anti-CTLA-4 humano redujera toxicidad en comparación con la administración sistémica de un anticuerpo anti-CTLA-4 humano.

CD40L se une al receptor CD40 presente en células presentadoras de antígenos como las células dendríticas y los macrófagos. La interacción CD40L-CD40 da lugar a la maduración de las células dendríticas, que se espera que se traduzca en una mayor presentación cruzada de antígenos tumorales a los linfocitos T CD8+ . Las células dendríticas maduras activan adicionalmente los linfocitos T CD8+ al aumentar la expresión de moléculas coestimuladoras del sistema inmunitario, lo que se espera que se traduzca en una mejor respuesta antitumoral y formación de memoria inmunológica (Elgueta et al. 2009).

4-1BBL se une al receptor de señalización coestimuladora 4-1BB presente en los linfocitos T CD8+ . La unión 4-1BBL-4-1BB da lugar a la activación de vías de señalización que inducen la expresión de genes de supervivencia y reducen la expresión de genes proapoptóticos, lo que se espera que favorezca la activación y la supervivencia de los linfocitos T CD8+ así como una mayor producción de citocinas para aumentar la inmunidad antitumoral (Vinay and Kwon 2012).

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:

RP3 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 RP3 no afectará a ningún ecosistema, ya que RP3 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

### a) Desde el OMG a otros organismos del entorno donde se realiza la liberación intencional

No es posible que RP3 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 RP3 y VHS-1 de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP3 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 RP3 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP3 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP3 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 RP3 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 RP3 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 RP3 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 RP3 (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.

b) De otros organismos al OMG:

Competencia con especies existentes: RP3 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.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

RP3 se ha construido eliminando los genes ICP34.5 y ICP47. Con estas deleciones, 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 deleción del gen ICP34.5 se ve atenuada sustancialmente en animales y humanos ([Whitley 1993](#); [Varghese 2001](#); [Valyi-Nagy et al. 1994](#); [Senzer 2009](#); [Rampling et al. 2000](#); [Perng et al. 1995](#); [Papanastassiou 2002](#); [MacKie 2001](#); [Mace 2008](#); [Hunter 1999](#); [Hu et al. 2006](#); [Harrow et al. 2004](#); [Harrington et al. 2010](#)).

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

No procede, ya que RP3 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 RP3 con objetivo tanto de analizar la calidad del producto como para vigilar la presencia de RP3 tras su administración.

Es improbable que RP3 se disperse más allá del lugar de liberación intencional. Se prevé utilizar RP3 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 RP3 a terceros. Se espera que los procedimientos de manejo y la eliminación aseguren la improbabilidad de que RP3 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 Eurofins (laboratorio central). No se prevé el almacenamiento de muestras en los centros médicos.

Las muestras que se van a evaluar son las siguientes: sangre, orina, hisopos de saliva/mucosa oral, el lugar de inyección y el exterior del apósito, además de recogerse muestras para detectar una posible infección herpética.

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

Es improbable que RP3 se establezca en el medioambiente, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP3 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 (m<sup>2</sup>)

El tamaño de cada uno de los centros que siguen a los pacientes varía. No obstante, allí donde se administre RP3 se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.

Medidas de seguridad: Cada dosis de RP3 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP3 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 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, RP3 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP3 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. RP3 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 del virus RP3 en sangre, orina, hisopos con saliva/mucosa bucal, muestras del lugar de inyección y del exterior del apósito, y lesiones con aspecto herpético mediante qPCR en el estudio RP3-002**

Estudio, fase y parte	Muestras	Puntos temporales
Cohorte LA de RP3-002	Saliva/mucosa bucal	Se recogerán muestras de sangre, orina, hisopos con saliva/mucosa bucal, lugar de inyección y apósito del lugar de inyección:
	Sangre	
	Orina	<ul style="list-style-type: none"> <li>de la primera a la tercera inyección de RP3: antes de la dosis, 6 horas (<math>\pm</math> 2 horas), 21 horas (<math>\pm</math> 3 horas) y 48 horas (<math>\pm</math> 6 horas) después de la dosis.</li> <li>antes de la administración de la cuarta a la octava dosis</li> </ul>
	Lugar de inyección y apósitos	
	Lesiones con apariencia herpética	Se recogerán muestras (hisopos de la zona donde se sospecha de infección) en cualquier momento en que se sospeche la aparición de una infección vírica relacionada con RP3, como erupciones vesiculares u otros signos de infección vírica por herpes.
Cohorte R/M de RP3-002	Saliva/mucosa bucal	Se recogerán muestras de sangre, orina, hisopos con saliva/mucosa bucal, lugar de inyección y apósito del lugar de inyección de la primera a la tercera inyección de RP3: antes de la dosis, a las 6 horas ( $\pm$ 2 horas), 21 horas ( $\pm$ 3 horas) y 48 horas ( $\pm$ 6 horas), y antes de la administración de la cuarta a la octava dosis.
	Sangre	
	Orina	
	Lugar de inyección y apósitos	

	Lesiones con apariencia herpética	Se recogerán muestras (hisopos de la zona donde se sospecha de infección) en cualquier momento en que se sospeche la aparición de una infección vírica relacionada con RP3, como erupciones vesiculares u otros signos de infección vírica por herpes.
<p>Las muestras y el calendario de evaluaciones siguen las directrices de la FDA Guidance for Industry – Design and Analysis of Shedding Studies for Virus or Bacteria-Based Gene Therapy and Oncolytic Products (2015) y las consideraciones de la ICH: Principios generales para abordar los virus y la excreción de virus.</p> <p>Tras un periodo de selección de 28 días, los pacientes pueden recibir el tratamiento del estudio hasta un máximo de unos 12 meses (para la cohorte LA) o de 24 meses (para la cohorte R/M), y se hace un seguimiento de la supervivencia de hasta tres (3) años.</p>		

**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 RP3 deberán eliminarse siguiendo la política del centro. Una vez finalizada la administración, todos los productos desechables, como agujas, jeringas y equipo de protección individual 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 RP3 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, RP3 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP3 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. RP3 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 utilizado desde el inicio del procedimiento (es decir, la administración de RP3) 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

RP3 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 RP3 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. RP3 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP3 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 RP3 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 RP3, 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, RP3 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP3 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. RP3 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 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 RP3 se establezca en el entorno, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP3 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. RP3 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. RP3 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP3 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, RP3 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

## BIBLIOGRAFÍA

- 20120139, Imlygic Registration Study. 2015. 'EU Assessment Report'.
- Andtbacka, R. 2016. 'Tumor response from phase II study of combination treatment with intratumoral HF10, a replication-competent HSV-1 oncolytic virus, and ipilimumab in patients with stage IIIB, IIIC, or IV unresectable or metastatic melanoma', *Ann Oncol*, 27: 1146P.
- 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.
- Campadelli-Fiume, G., C. De Giovanni, V. Gatta, P. Nanni, P. L. Lollini, and L. Menotti. 2011. 'Rethinking herpes simplex virus: the way to oncolytic agents', *Rev Med Virol*, 21: 213-26.
- Chayavichitsilp, Pamela, and et al. 2009. 'Herpes Simplex', *Pediatrics in Review*.
- Croughan, W.S., and A.M. Behbehani. 1988. 'Comparative Study of Inactivation of Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 by Commonly Used Antiseptic Agents', *J Clin Microbiol*, 26: 3.
- Elgueta, R., M. Benson, V. de Vries, A. Wasiuk, Y. Guo, and R. Noelle. 2009. 'Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system', *Immunological Reviews*.
- Errington, F., J. Jones, A. Merrick, A. Bateman, K. Harrington, M. Gough, D. O'Donnell, P. Selby, R. Vile, and A. Melcher. 2006. 'Fusogenic membrane glycoprotein-mediated tumour cell fusion activates human dendritic cells for enhanced IL-12 production and T-cell priming', *Gene Ther*, 13: 138-49.
- Green, Laura K., and Deborah Pavan-Langston. 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 OncoVEXGM-CSF, a second-generation oncolytic herpes simplex virus expressing granulocyte macrophage colony-stimulating factor', *Clin Cancer Res*, 12: 6737-47.
- 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., & Morrow, R. A. . 2007. 'Herpes simplex viruses and Herpes B virus.', *Manual of clinical microbiology*, 9th edition: 1523-36.
- Kimberlin, David W. 2005. 'Herpes Simplex Virus Infections in Neonates and Early Childhood', *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*.
- Korniluk, Aleksandra, Halina Kemonia, and Violetta Dymicka-Piekarska. 2014. 'Multifunctional CD40L: pro- and anti-neoplastic activity', *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 35: 9447-57.
- Kramer, Axel, and et al. 2006. 'How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review', *BioMed Central Infectious Diseases*.
- Kukhanova, M.K., and 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*.
- Mohr, Ian, and et al. 1996. 'A herpesvirus genetic element which affects translation in the absence of the viral GADD34 function', *The EMBO Journal*.
- Nerurkar, Lata S., and 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).
- Puzanov, I., M. M. Milhem, D. Minor, O. Hamid, A. Li, L. Chen, ., and et al. 2016. 'Talimogene Laherparepvec in Combination With Ipilimumab in Previously Untreated, Unresectable Stage IIIB-IV Melanoma', *J Clin Oncol*, 34: 2619-26.
- 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., Z. Han, B. Liu, Y. Wang, G. Campbell, and R. S. Coffin. 2006. 'Combination of a fusogenic glycoprotein, prodrug activation, and oncolytic herpes simplex virus for enhanced local tumor control', *Cancer Res*, 66: 4835-42.
- 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*.
- Vinay, Dass S., and Byoung S. Kwon. 2012. 'Immunotherapy of Cancer with 4-1BB', *Molecular Cancer Therapeutics*.
- 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, and D. Payne. 1998. 'The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses', *Journal of Hospital Infection*.