

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/21/29 |
| c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: | la 10 de noviembre de 2021 |
| d) Título del proyecto: | Estudio de fase 1 abierto, multicéntrico, de RP2 como monoterapia y en combinación con el bloqueo de PD1 en pacientes con tumores sólidos [RP2-001-18] |
| e) Período propuesto para la liberación: | Desde febrero de 2022 hasta febrero de 2024 |

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: RP2 es un virus recombinante de la cepa RH018 del virus del herpes simplex de tipo silvestre (VHS-1) con delección de los genes ICP34.5 (ambas copias) e ICP47, y con hGM-CSF y GALV-GP-R y ahCTLA-4 insertado en lugar de los genes eliminados ICP34.5.

RP2 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 RP2 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 RP2 constituye para las personas y el medioambiente es de Bajo a Insignificante.

Teniendo en cuenta el perfil de seguridad enormemente mejorado de RP2 en comparación con el VHS-1 de tipo silvestre, la evaluación realizada por Replimune para RP2 clasifica a este OMG en el Grupo de Riesgo 1, ya que la delección de ICP34.5 implica que RP2 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 RP2 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 RP2 provoquen un genotipo inestable. El genoma del inóculo maestro del virus (MVSS) RP2 se ha secuenciado en su totalidad mediante secuenciación del genoma completo, y las regiones modificadas o insertadas se han secuenciado también usando estándares de buenas prácticas de fabricación con un enfoque de secuenciación mediante PCR y secuenciación Sanger. Se confirmó así la delección de los genes ICP47 e ICP34.5 y la presencia de los genes GALV-GP-R, hGM-CSF y ahCTLA-4 con la secuencia esperada dentro del genoma de RP2, demostrándose de ese modo que se habían insertado las secuencias correctas y que el genotipo era estable.

En una de las regiones inmediatamente flanqueantes del inserto hGM-CSF/ahCTLA-4/GALV-GP-R- en la región de ICP34.5, se habían eliminado 255 nucleótidos de la secuencia vírica flanqueante. Además, se insertaron 459 nucleótidos de una secuencia de vector plasmídico entre el final de la secuencia de SV40pA y el inicio de la secuencia vírica flanqueante. No hubo ningún cambio en la secuencia codificadora del inserto ni en elementos reguladores asociados y la secuencia de vector plasmídico insertada es no codificadora. La secuencia adicional de 459 nucleótidos derivada del vector plasmídico va acompañada de una delección de 255 nucleótidos en la secuencia de la región flanqueante 2 de ICP34.5 con respecto a la secuencia esperada.

Tras un análisis exhaustivo de las regiones flanqueantes de ICP34.5, Replimune no cree que exista ningún problema de seguridad debido a la presencia de 459 pares de bases de secuencia plasmídica no codificadora en RP2, incluido el hecho de que no sería de esperar que la secuencia plasmídica tenga potencial oncogénico. De forma similar, no sería de esperar que la delección adicional en el locus de ICP34.5, por la que la delección realizada en el gen que codifica ICP34.5 aumenta de 774 nucleótidos a 909 nucleótidos, tuviera algún efecto fenotípico por cuanto que en ambos casos se ha eliminado funcionalmente ICP34.5.

En lo que respecta a la seguridad del ADN plasmídico, se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos en los que se administraba ADN plasmídico a seres humanos en distintos formatos (lo que sería de esperar que en muchos casos incluyera la secuencia de 459 pb), incluyendo mediante inyección directa y electroporación ([Heller 2010](#); [Lambrecht 2016](#); [Murikami 2011](#)), sin que se haya notificado ningún indicio de efectos oncogénicos.

La secuenciación del lote de RP2 murino utilizado en los estudios de toxicología y biodistribución demostró que la secuencia insertada no estaba presente. Se secuenció el MVSS 5002-0002 del RP2 humano, demostrándose que sí contenía la secuencia insertada. Se ha visto que tanto RP2 como mRP2 median de forma equivalente la fusión entre células mediada por GALV-GP R- y expresan niveles equivalentes de GM-CSF y anti-CTLA-4. Así pues, como cabía esperar, la inserción de 459 pb/delección de 255 pb no afecta al perfil de expresión transgénica del virus. La caracterización proteica mediante transferencia Western ha mostrado una intensidad similar de bandas para ambos anticuerpos anti-CTLA-4 humano y murino. Las pruebas ELISA de anticuerpos anti-CTLA-4 (murino y humano) y GM-CSF (murino y humano) indicaron asimismo que los niveles de anti-CTLA-4 y GM-CSF expresados eran comparables.

Así pues, si bien la secuencia plasmídica adicional está presente en RP2 y no en mRP2, Replimune concluye que esta diferencia es funcionalmente irrelevante, y que los virus son por tanto funcionalmente equivalentes, al margen de que RP2 codifique las versiones humanas de GM-CSF y ah-CTLA-4 mientras que mRP2 codifica las versiones murinas. Eso incluye la equivalencia funcional de los virus con respecto a los estudios de toxicología y biodistribución, lo que justifica el uso de mRP2 en lugar de RP2 en dichos estudios realizados en ratones, y que mRP2 fue por tanto un sustituto murino apropiado para tal uso.

No obstante, en lo referente a la seguridad, se utilizó el propio RP2 en un estudio preclínico de eficacia murina (en ratones en los que se había sustituido el gen de CTLA-4 murino por la versión humana), destinado a demostrar la actividad biológica del constructo ah-CTLA-4 *in vivo* (estudio de Replimune 4648-0025). En este estudio, además de demostrarse la actividad biológica de ah-CTLA-4, RP2 (que incluía la secuencia de 459 pb) resultó ser bien tolerado, sin que se observaran efectos en los pesos corporales ni toxicidades manifiestas.

Conclusiones extraídas de artículos de revisión relativos al uso clínico de ADN plasmídico

Las revisiones bibliográficas de [Bodles-Brakhop 2009](#) y [Lambrecht y col. 2016](#) analizan varios ensayos clínicos que incluían el uso de ADN plasmídico para el tratamiento de varios tipos de cánceres y enfermedades infecciosas. En esas revisiones se concluyó que durante los ensayos del ADN plasmídico para el tratamiento de cánceres como melanomas, cáncer pancreático, cáncer cutáneo de células escamosas o cáncer de cabeza y cuello, y también como estrategia de vacunación para el tratamiento de enfermedades infecciosas como la gripe, el VIH y la hepatitis, los datos de seguridad indican que el ADN plasmídico es seguro y en la mayoría de los casos no tiene efectos secundarios o sus efectos secundarios están limitados al lugar de la inyección.

Resumen

Sobre la base del análisis realizado por Replimune de los 459 pares de bases de secuencia plasmídica presentes en RP2, concluimos que es muy improbable que se produzca ningún ARNm o proteína a partir de esta secuencia. Por lo tanto, cualquier consecuencia de la presencia de la secuencia de 459 pb en RP2 estaría relacionada con la presencia del propio ADN. De forma adicional, un estudio de eficacia murina para hCTLA-4 realizado en ratones knock-in utilizando el RP2 humano, es decir que incluía la secuencia de 459 pb, no mostró ningún indicio de toxicidad y sí una eficacia claramente mejorada en comparación con un virus equivalente que no expresaba ah-CTLA-4 (y que no contenía la secuencia de 459 pb). Nuestra búsqueda bibliográfica indica que el ADN plasmídico, que en general sería de esperar que contuviera la misma secuencia de 459 pb, ha sido en general bien tolerado en seres humanos, sin que se identificara ningún problema de seguridad. Eso incluye la administración a dosis mucho más altas (dosis como mínimo 10 000 veces superiores) a la que estaría presente en la dosis máxima prevista de RP2 y proporciona un colchón de seguridad suficientemente amplio para tener también en cuenta la replicación de RP2 en tumores esperada tras la administración intratumoral.

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 inserto GALV-GP-R-/hGM-CSF/ahCTLA-4.

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 type="checkbox"/> | No <input checked="" type="checkbox"/> |
| En caso afirmativo, indique el código del país: | |

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"/> |
| | |

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 Número de la notificación: RU (EudraCT 2018-003765-33) | |

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, RP2 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. RP2 se utilizará en centros médicos bajo un control estrecho. El lugar de inyección se cubrirá con un apósito. Existen procedimientos implantados para la gestión y eliminación de los residuos cuyo objetivo es impedir la diseminación.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

| |
|-------------------------------------------------------|
| a) Indíquese si el organismo receptor o parental es : |
|-------------------------------------------------------|

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

2. Nombre

| |
|-----------------------------------------------------|
| i) Orden y taxón superior (animales): Herpesvirales |
| ii) Género: Simplexvirus |
| iii) Especie: Virus del herpes simple tipo 1 |
| iv) Subespecie: |
| v) Cepa: RH018 |
| vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): |
| vii) Nombre vulgar: VHS-1 |

3. Distribución geográfica del organismo

| |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Autóctono del país que notifica o establecido en él: |
| Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/> |
| b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos: |
| i) Sí <input checked="" type="checkbox"/> |
| En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra: |

| | |
|-------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Atlántico | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Mediterráneo | <input type="checkbox"/> |
| Boreal | <input type="checkbox"/> |
| Alpino | <input type="checkbox"/> |
| Continental | <input type="checkbox"/> |
| Macaronésico | <input type="checkbox"/> |
| ii) No | <input type="checkbox"/> |
| iii) No se sabe | <input type="checkbox"/> |
| c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica? | |
| Sí <input type="checkbox"/> | No <input checked="" type="checkbox"/> |
| d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica? | |
| Sí <input type="checkbox"/> | No <input checked="" type="checkbox"/> |

4. Hábitat natural del organismo

| | |
|------------------------------------------------------------|--------------------------|
| a) Si es un microorganismo: | |
| Agua | <input type="checkbox"/> |
| Suelo, en libertad | <input type="checkbox"/> |
| Suelo, en simbiosis radiculares de plantas | <input type="checkbox"/> |
| En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas | <input type="checkbox"/> |
| En simbiosis con animales | <input type="checkbox"/> |

Otros , (especifíquense):



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, et al, 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

No

En caso afirmativo, especifíquese:

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 tratamientos efectivos».

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

La patogenicidad del VHS-1 de tipo silvestre se describe en la [Table 1](#).

Table 1. Patogenicidad del VHS-1

| Patogenicidad | Descripción |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Herpes labial/calentura | La primoinfección con VHS-1 se suele adquirir en la niñez y puede ser asintomática o subclínica (Jerome, 2007 ; Kimberlin, 2005). Las primoinfecciones sintomáticas cursan principalmente como gingivostomatitis, 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 del bermellón del labio) y se denominan «calenturas» o «herpes labial» (Kimberlin, 2005). Las lesiones se resuelven en aproximadamente 8-10 días (Kimberlin, 2005). |
| Panadizo herpético | Caracterizado por la formación de lesiones vesicales dolorosas en la uña o la zona de los dedos. |
| Infecciones en ojos | Aparece una ulceración dendrítica característica en la conjuntiva y la córnea. La infección con VHS puede provocar otras enfermedades oculares, como blefaritis/dermatitis, conjuntivitis, queratitis epitelial dendrítica y ulceración de la córnea (Green, 2006). |
| Encefalitis | Infecciones graves del SNC, que afectan tanto a niños como a adolescentes (Whitley, 2006). Pueden 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 |

| Patogenicidad | Descripción |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | (Whitley, 2006). |
| Herpes genital | Se trata de una enfermedad de transmisión sexual. El herpes genital está provocado principalmente por el virus VHS-2, aunque en los países desarrollados, el VHS-1 se ha vuelto tan común como el VHS-2 en las infecciones genitales primarias. El herpes genital primario se caracteriza por la presencia de úlceras genitales múltiples, bilaterales, dolorosas y extensas, que se resuelven sin dejar cicatriz en un plazo de 12 días. Los pacientes también presentan con ganglios linfáticos agrandados, fiebre, malestar y mialgia. En casos infrecuentes, esta enfermedad también puede causar meningitis aséptica con rigidez en el cuello y dolor de cabeza grave. La enfermedad herpética genital recurrente es de menor duración, más leve y carente de síntomas sistémicos. La principal manifestación de la enfermedad es parestesia prodrómica en el perineo, los genitales o las nalgas, seguida por formación de lesiones agrupadas en la zona de los genitales externos. Las lesiones se resuelven sin dejar cicatriz en 2-5 días. |
| Herpes neonatal | El herpes neonatal es una enfermedad extremadamente grave con una tasa de mortalidad muy alta. Los recién nacidos que sobreviven a la infección pueden presentar complicaciones neurológicas. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad varían y se pueden clasificar en tres grupos: enfermedad diseminada, que compromete múltiples órganos, como pulmones, hígado, glándulas suprarrenales, piel, ojos y cerebro (25%); enfermedad del SNC con apatía y convulsiones (~ 30 % de los casos totales, incluido entre el 60 y el 75 % de los casos que presentan enfermedad diseminada); y enfermedad limitada a la piel, ojos y/o boca (45 %) (Kimberlin, 2005). |

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

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

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, 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, 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 1988). En cuanto a los desinfectantes, el virus VHS se puede inactivar con Lysol al 0,5 % en 5 minutos; Listerine (mezclas 1:1) en 5 minutos; 2000 ppm (2000 µl/l) de lejía en 10 minutos; y alcohol (mezclas 1:1) (Croughan, 1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998). La mayoría de los herpesvirus también son sensibles a etanol e isopropanol al 30 %, fenol ortofenílico al 0,12 % y glutaraldehído al 0,04 % (Prince, 2001).

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

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 | <input type="checkbox"/> |
| viii) | larvas | <input type="checkbox"/> |
| ix) | otras (especificuense): Esta sección no procede | |
| <p>b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia</p> <p>El VHS-1 es un virus con cubierta que es sensible tanto a la inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) como a los desinfectantes (solventes lipídicos y detergentes suaves), que lo inactivan de forma rápida. El virus VHS de tipo silvestre se inactiva fácilmente fuera de su huésped con una exposición a pH < 4, temperaturas > 56 °C durante 30 minutos, pasterización (60 °C durante 10 horas), y calentamiento mediante microondas durante 4 minutos (Croughan 1988). En cuanto a los desinfectantes, el virus VHS se puede inactivar con Lysol al 0,5 % en 5 minutos; Listerine (mezclas 1:1) en 5 minutos; 2000 ppm (2000 µl/l) de lejía en 10 minutos; y alcohol (mezclas 1:1) (Croughan, 1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998). La mayoría de los herpesvirus también son sensibles a etanol e isopropanol al 30 %, fenol ortofenílico al 0,12 % y glutaraldehído al 0,04 % (Prince, 2001).</p> <p>Los fármacos antivirales, como aciclovir, foscarnet, valaciclovir, famciclovir y penciclovir, pueden inhibir la replicación vírica. Foscarnet se utiliza en casos de VHS resistentes al aciclovir (Jerome, 2007).</p> <p>El VHS sobrevive durante periodos de tiempo cortos fuera del huésped (Chayavichitsilp, 2009). Puede sobrevivir en superficies inanimadas secas (la supervivencia oscila entre unas pocas horas hasta 8 semanas). Sobreviven más tiempo a humedades más bajas (Kramer, 2006).</p> <p>La investigación adicional ha demostrado que el VHS-1 sobrevive hasta 4 horas en agua del grifo y 4,5 horas en superficies plásticas a altos niveles de humedad (Nerurkar, 1983). La observación del VHS-1 en fómites, como superficies plásticas y superficies cromadas, también muestra que el virus infeccioso sigue siendo recuperable después de 2 horas, aunque se observa una reducción de 2-3 log en el título viral de VHS-1 en el plazo de 1 hora en pomos de puerta y grifos/manillas. También se pudo recuperar virus infeccioso a partir de piel humana al menos 2 horas después de su introducción (Bardell, 1989, 1990, 1993, 1994).</p> | | |

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

RP2 se construyó usando una nueva cepa de VHS-1 (cepa RH018). El factor de neurovirulencia codificado por los genes codificadores ICP34.5 y el inhibidor de procesamiento de antígeno codificado por el gen codificador ICP47 se eliminaron del virus. La delección de ICP34.5 reduce la susceptibilidad del tejido normal a la infección lítica debido a la incapacidad del virus para superar las vías de los interferones de tipo 1 (IFN- α/β) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores. El objetivo de la delección de ICP47 en RP2 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 RP2 también conlleva un aumento en la expresión de la proteína viral US11 (Mohr, 1996). US11 presenta algo de redundancia funcional con ICP34.5 y un aumento en la expresión de US11 aumenta la replicación del VHS-1 con delección de ICP34.5 en tumores, sin pérdida de la selectividad para el tumor (Mohr, 2001). Como se ha eliminado ICP34.5, el virus se replica selectivamente en tumores, lo que limita la expresión de GALV-GP-R- en tejidos no tumorales. La secuencia con codones optimizados para la proteína superficial del virus de la leucemia de gibones (GALV-GP) con delección de la secuencia R- (R-) provoca fusión celular, lo que conlleva muerte celular. El virus también contiene una secuencia con codones optimizados para el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (hGM-CSF). Se pretende que la activación de GM-CSF durante la respuesta inmune que sigue a la inyección intratumoral del virus modificado genéticamente (MG) provoque una respuesta inmune al provocar la entrada y activación de células dendríticas. El aumento de células dendríticas también puede contribuir a la presentación de antígenos asociados al tumor por parte de las células tumorales, y los siempre importantes linfocitos T CD4+ y CD8+ específicos del tumor, para

estimular así una respuesta antitumoral sistémica y específica (Dranoff, 1993; Huang 1994).

Por último, RP2 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 ah-CTLA-4 redujera la toxicidad en comparación con la administración sistémica de un anticuerpo ah-CTLA-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).

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 (especifiquense): | |
| 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 No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense): delección de ICP34.5 e ICP47

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: carece del gen de resistencia a antibióticos

Fragmentos constituyentes del vector

- delección de ICP34.5
- delección de ICP47
- inserción de GALV-GP-R-
- inserción de GM-CSF
- inserción de ahCTLA-4

e) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- 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
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- v) otros, (especifíquense):

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

- inserción de GALV-GP-R- controlada por el promotor de repetición terminal larga del virus del sarcoma de Rous (RSV-LTR) y secuencias de poliadenilación
- inserción de GM-CSF controlada por el promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano (hCMV IE) y secuencias de poliadenilación
- inserción de ahCTLA-4 controlada por el promotor del virus de la leucemia murina de Moloney (MMLV) y secuencias de poliA

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

- delección de ICP34.5: La delección de ICP34.5 reduce la susceptibilidad del tejido normal a la infección lítica, debido a la incapacidad del virus para superar las vías de los interferones de tipo 1 (IFN- α/β) y de la proteínquinasa R (PKR), que están desreguladas en los tumores. Las vías de los interferones tipo 1 y de PKR son vías de defensa inherentes a las células que han evolucionado como protección contra los virus. El tejido normal es capaz de usar las vías del interferón tipo 1 y de PKR para protegerse de la infección lítica provocada por el VHS-1 deficiente en ICP34.5, mientras que muchos tumores conservan la susceptibilidad (Campadelli-Fiume 2011).

- delección de ICP47: el objetivo de la eliminación de ICP47 en RP2 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 RP2 también conlleva el aumento en la expresión de la proteína viral US11 del VHS-1 (Mohr 1996). US11 presenta algo de redundancia funcional con ICP34.5 y un aumento en la expresión de US11 aumenta la replicación del VHS-1 con delección de ICP34.5 en tumores, sin pérdida de la selectividad para el tumor (Mohr 2001).

- inserción de GALV-GP-R-: La versión truncada R- de la glicoproteína fusogénica GALV-GP conserva la actividad constitutiva de fusión celular, que se prevé será beneficiosa para el tratamiento del tumor al aumentar la muerte de las células tumorales y la liberación de antígenos tumorales que refuercen el efecto de vacunación.

- inserción de GM-CSF: GM-CSF es una citoquina que forma parte de la respuesta inmune/inflamatoria, y actúa induciendo la proliferación y diferenciación de ciertos tipos de células inmunes, por ejemplo los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y los monocitos.

-inserción de ah-CTLA-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.

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

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifiquense): 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"/> |

de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP2 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 RP2 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP2 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP2 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 RP2 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 RP2 y el VHS-1 de tipo silvestre se daría desde o hasta la misma ubicación genética. El casete de expresión GM-CSF/GALV-GP-R-ahCTLA-4 que hay en RP2 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 RP2 (y por lo tanto tendrían una desventaja evolutiva en relación con la población de VHS-1 de tipo silvestre). El rango de huéspedes, la susceptibilidad a los agentes antivirales y la susceptibilidad a los métodos de inactivación física o química serían también iguales a los de las cepas parentales. Por lo tanto, cualquier variante genética que pudiera, teóricamente, crearse en eventos de recombinación no conllevaría ningún cambio en el riesgo medioambiental. La recombinación, homóloga o no homóloga, solo puede ocurrir dentro de las células del huésped. No es posible que haya recombinación entre virus en el entorno, tal y como puede suceder con las bacterias.

Los análisis realizados con enfoques de secuenciación mediante PRC y Sanger, confirman la delección de los genes ICP47 y ICP34.5, y la presencia de los genes GALV-GP-R- y hGM-CSF y ahCTLA-4 con la secuencia esperada dentro del genoma RP2.

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

| | | |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------|
| Sí <input type="checkbox"/> | No <input checked="" type="checkbox"/> | No se sabe <input type="checkbox"/> |
| En caso afirmativo: | | |
| a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes? | | <input type="checkbox"/> |
| animales | | <input type="checkbox"/> |
| plantas | | <input type="checkbox"/> |
| otros | | <input type="checkbox"/> |

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

La PCR es el método más sensible y específico de diagnóstico de la infección del VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS1; Whitley et al, 1998). Se ha desarrollado un ensayo de qPCR para identificar el rHSV-1/hGM-CSF/GALV-GP-R-/ahCTLA-4 (RP2).

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Los análisis realizados con enfoques de secuenciación mediante PRC y Sanger, confirman la delección de los genes ICP47 y ICP34.5, y la presencia de los genes GALV-R- y hGM-CSF y ahCTLA-4 con la secuencia esperada dentro del genoma RP2.

F. Información sobre la liberación

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

El objetivo de la liberación intencional es realizar un estudio de fase 1 abierto, multicéntrico, de RP2 como monoterapia y en combinación con el bloqueo de PD1 en pacientes con tumores sólidos (Protocolo del estudio clínico, RP2-001-18).

El diseño del estudio consta de tres partes. La parte 1 del estudio es una fase de aumento progresivo de la dosis para evaluar la seguridad y la tolerabilidad de RP2 como monoterapia, en la que se ha completado ya la inclusión de pacientes. La parte 2 está diseñada para evaluar la seguridad y la actividad antitumoral de RP2 en combinación con nivolumab en una cohorte de ampliación con una población de pacientes seleccionada. La parte 3 está diseñada para evaluar RP2 como monoterapia en una población de pacientes seleccionada.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

El lugar de liberación serán centros médicos (es decir, los centros del estudio), donde los sujetos recibirán RP2 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 HM Sanchinarro | |
| b) Área del lugar (m ²): | <p>El tamaño de cada centro varía, no obstante, en el lugar donde tendrá lugar la administración de RP2, se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.</p> <p>i) lugar real de la liberación (m²):</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m²):</p> |
| c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: | <p>Se prevé utilizar RP2 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 RP2 a terceros. La exposición de los biotopos, zonas protegidas y depósitos de agua potable es muy improbable. En los centros del estudio, todos los desechos se tratarán de la misma forma que los demás desechos de productos humanos y se enviarán fuera del centro para su autoclavado y eliminación. Como el organismo parental se inactiva fácilmente fuera de su huésped y no tiene vectores conocidos, es improbable que los biotopos se vean afectados.</p> |
| d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: | <p>Tanto el VHS-1 de tipo silvestre como el VHS-1 recombinante son extremadamente susceptibles a la deshidratación, y se inactivan fácilmente fuera de su huésped (Baldo, 2013). RP2 (rHSV-1/hGM-CSF/GALV-GP-R-/ahCTLA-4) se inactiva de la misma forma que el VHS-1 de tipo silvestre, ya que las modificaciones no influyen en la viabilidad del virus. Por lo tanto, no se espera que se vea afectada ninguna flora ni fauna, incluidas las plantas de interés agrícola, el ganado y las especies migratorias.</p> |

4. Método y amplitud de la liberación

| a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: | | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|-------------|-------|----|------------------------------------|------------------------------------------|--|--|--|------------------------------------|
| Cantidad estimada de RP2 en la parte 2 de combinación y la parte 3 de monoterapia | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1"> <thead> <tr> <th>Posología</th> <th>Volumen / dosis</th> <th>Volumen de dosis / paciente</th> <th>Pacientes totales</th> <th>Cantidad total proyectada</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1 x 10⁷ PFU/mL</td> <td>1 mL / vial</td> <td>80 mL</td> <td>25</td> <td>2 x 10¹⁰ PFU / 2000 mL</td> </tr> <tr> <td colspan="4">Estimación general de la cantidad de RP2</td> <td>2 x 10¹⁰ PFU / 2000 mL</td> </tr> </tbody> </table> | Posología | Volumen / dosis | Volumen de dosis / paciente | Pacientes totales | Cantidad total proyectada | 1 x 10 ⁷ PFU/mL | 1 mL / vial | 80 mL | 25 | 2 x 10 ¹⁰ PFU / 2000 mL | Estimación general de la cantidad de RP2 | | | | 2 x 10 ¹⁰ PFU / 2000 mL |
| Posología | Volumen / dosis | Volumen de dosis / paciente | Pacientes totales | Cantidad total proyectada | | | | | | | | | | | |
| 1 x 10 ⁷ PFU/mL | 1 mL / vial | 80 mL | 25 | 2 x 10 ¹⁰ PFU / 2000 mL | | | | | | | | | | | |
| Estimación general de la cantidad de RP2 | | | | 2 x 10 ¹⁰ PFU / 2000 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 RP2 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 RP2 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP2 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manejo de materiales infecciosos. El equipo de protección individual (EPI) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla por si acaso se producen salpicaduras. Todo el personal que maneje el OMG con objetos cortopunzantes tendrá formación médica y gran experiencia en las técnicas pertinentes. Como el(los) ensayo(s) se realizará(n) en hospitales, el personal médico y farmacéutico tiene experiencia en técnicas de manejo seguro de agujas para preparar, administrar y desechar los medicamentos, así como en la toma de muestras con objetos cortopunzantes.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56°C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP2 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. RP2 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP2 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) 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 a trabajadores sanitarios ni contactos estrechos de los pacientes tratados con RP1; incluso si tal transmisión llegara a darse, no sería de esperar que provocara signos ni síntomas clínicos teniendo en cuenta que RP1 está desactivado y no es capaz de replicarse de forma productiva salvo en los tumores. Se prevé que la biodistribución y los patrones de excreción de RP2 no sufran cambios por la expresión adicional de anti-CTLA-4.

Mientras se están evaluando datos de pacientes correspondientes a RP2, se han evaluado la biodistribución y la excreción de RP2 dentro de un programa no clínico. Los resultados de un estudio de administración de dosis repetidas de RP2 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. Si bien los análisis de biodistribución en otros puntos temporales se encuentran en curso, a las 24 horas y los 7 días después de la última administración, RP2 se detectaba principalmente en el tumor A20 o en la piel tanto a dosis bajas (5×10^6) como a dosis altas (5×10^7). Los niveles detectados en el tumor son indicativos de niveles altos de replicación vírica. Ningún otro tejido fue positivo a la dosis de 5×10^6 . A la dosis alta, se detectaron niveles bajos de virus RP2 de forma intermitente en un pequeño número de tejidos sólidos. En los puntos más tardíos, los tejidos positivos se detectaban por lo general en el mismo animal. Cinco muestras de tejidos nerviosos (de cerebro, nervio mediano y médula espinal torácica) dieron resultado positivo 24 horas después de la última administración de RP2, pero todas salvo 3 muestras eran negativas 7 días después de la última administración. Hasta el momento, no se ha detectado ninguna muestra con excreción positiva.

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)

RP2 (rHSV-1/hGM-CSF/GALV-GP-R-/ahCTLA-4) es un VHS-1 de replicación selectivamente competente. El virus contiene una secuencia con codones optimizados para hGM-CSF y una secuencia con codones optimizados para GALV-GP R- y sequence for a single chain antibody-like molecule to human cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (ahCTLA-4).

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 RP2 se replica selectivamente en las células que se dividen rápidamente, como el tejido tumoral, se minimiza la expresión de GALV-GP R- en los tejidos normales. Se cree que la destrucción oncolítica de las células tumorales provoca la liberación de antígenos asociados al tumor que se pretende activen una respuesta inmune antitumoral, aumentada por la expresión local de GM-CSF.

La expresión de una molécula similar a un anticuerpo ah-CTLA-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.

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

en el beneficio clínico.

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

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

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

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

Especifíquese:
RP2 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 RP2 no afectará a ningún ecosistema, ya que RP2 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) No es posible que RP2 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 RP2 y VHS-1 de tipo silvestre, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP2 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 RP2 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP2 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP2 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 RP2 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 RP2 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 RP2 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 RP2 (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: RP2 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:

RP2 se ha construido eliminando los genes ICP34.5 y ICP47. Con estas delecciones, se han eliminado el factor de neurovirulencia y el inhibidor de presentación de antígenos. Por lo tanto, no se espera que haya ninguna consecuencia en caso de

transferencia genética.

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

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

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

No procede, ya que RP2 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 RP2 con objetivo tanto de analizar la calidad del producto como para vigilar la presencia de RP2 tras su administración.

Es improbable que RP2 se disperse más allá del lugar de liberación intencional. Se prevé utilizar RP2 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 RP2 a terceros. Se espera que los procedimientos de manejo y la eliminación aseguren la improbabilidad de que RP2 acabe en el aire, el agua o el suelo en el punto de liberación intencional.

Las muestras de los participantes del estudio que contengan el OMG administrado se obtienen y envían el mismo día al PPD (laboratorio central). No se prevé el almacenamiento de muestras en los centros médicos.

Las muestras que se 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 RP2 se establezca en el medioambiente, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP2 se utilizará en un entorno clínico controlado y no tendrá ninguna interacción con otros OMG. La vía principal de excreción es en el lugar de inyección. Los lugares de inyección se cubrirán con apósitos oclusivos inmediatamente tras la inyección. Los apósitos se sustituirán cuando sea necesario hasta la siguiente visita del ensayo. Para más información sobre los datos de biodistribución relativos a la excreción desde el apósito oclusivo, remítase a la sección B.10.a.

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

Remítase a la sección E.4 para más información.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

El tamaño de cada uno de los centros que siguen a los pacientes varía. No obstante, allí donde se administre RP2 se seguirán las políticas del centro para mantener al mínimo la contaminación.

Medidas de seguridad: Cada dosis de RP2 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP2 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manejo de materiales infecciosos. El equipo de protección individual (EPI) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla por si acaso se dan salpicaduras. Todo el personal que maneje el OMG con objetos cortopunzantes tendrá formación médica y gran experiencia en las técnicas pertinentes. Como el(los) ensayo(s) se realizará(n) en hospitales, el personal médico y farmacéutico tiene experiencia en técnicas de manejo seguro de agujas para preparar, administrar y desechar los medicamentos, así como en la toma de muestras con objetos cortopunzantes.

El producto que no se haya utilizado, los materiales de contacto y los residuos se deben desechar en recipientes para residuos biológicos o inactivar con calor. Una temperatura superior a 56°C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP2 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP2 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. RP2 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 de detección de los niveles de virus RP2 en muestras de sangre, orina, hisopos de saliva/mucosa oral, el lugar de inyección y el exterior del apósito, así como lesiones de apariencia herpética mediante qPCR en el estudio RP2-001-18.

| Estudio y fases y partes | Muestras | Puntos temporales |
|--------------------------|----------|-------------------|
|--------------------------|----------|-------------------|

| | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RP2-001-18, fase 1, parte 2 (parte de combinación) y parte 3 (parte de monoterapia) | Saliva/mucosa oral | Las muestras de sangre y orina y los hisopos de saliva/mucosa oral, el lugar de inyección y el exterior del apósito se recogerán antes de administrarse la dosis correspondiente a las inyecciones primera a octava de RP2 y también a las 6 horas (\pm 2 horas), 21 horas (\pm 3 horas) y 48 horas (\pm 6 horas) de administrarse las tres (3) primeras dosis de RP2. Las muestras de los días de inyección se obtendrán antes de proceder a cualquier inyección o manipulación de RP2.. |
| | Sangre | |
| | Orina | |
| | Lugares de inyección y apósitos del lugar de inyección | |
| | Lesiones de apariencia herpética | Se recogerán muestras (hisopos de la zona con sospecha de infección) en cualquier momento en que exista alguna sospecha de infección vírica relacionada con RP2 como pueden ser erupciones vesiculares u otros signos de infección por virus del herpes. |

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

La duración del estudio correspondiente a las partes de tratamiento en combinación y monoterapia será la siguiente: selección (hasta 28 días), hasta 25 meses de tratamiento y hasta tres (3) años de seguimiento de la supervivencia.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todos los viales y las jeringas, usados o no, utilizadas para la administración de RP2 deberán eliminarse siguiendo la política del centro. Una vez finalizada la administración, todos los productos desechables, como agujas, jeringas y equipo de protección individual (EPI) se eliminarán en contenedores de objetos cortopunzantes o contenedores amarillos para desechos patológicos para su incineración. La ropa de cama se lavará siguiendo la política del centro. La zona donde se trata al paciente se descontaminará tal y como indiquen los procedimientos de limpieza del centro. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP2 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, RP2 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP2 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. RP2 es muy susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera de su huésped, y es susceptible a medicamentos antivíricos, tal como aciclovir.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

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

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los desechos generados con la administración consistirán en:

- Viales y agujas usados
- Torundas usadas y materiales asociados utilizados para limpiar la zona de inyección
- Apósitos usados que se aplican al lugar de inyección
- Equipo de protección individual (EPI) utilizado desde el inicio del procedimiento (es decir, la administración de RP2) 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

RP2 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 RP2 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. RP2 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP2 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 RP2 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 RP2, 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, RP2 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también puede inactivarse siguiendo los procedimientos del centro.

RP2 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. RP2 es muy susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera de su huésped, y es susceptible a medicamentos antivíricos, tal como aciclovir.

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

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

Es improbable que RP2 se establezca en el entorno, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP2 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. RP2 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. RP2 es sensible al tratamiento con aciclovir y las presuntas infecciones con RP2 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, RP2 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'.
- 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.
- Bodles-Brakhop, Angela, ., and et al. 2009. 'Electroporation for the Delivery of DNA-based Vaccines and Immunotherapeutics: Current Clinical Developments', *The American Society of Gene Therapy*, 17: 585–92.
- 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 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.
- Dranoff, Glenn et al. 1993. 'Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity', *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.
- Green, Laura K. & Pavan-Langston, Deborah. 2006. 'Herpes Simplex Ocular Inflammatory Disease', *International Ophthalmology Clinics*.
- Harrington, K. J., M. Hingorani, M. A. Tanay, J. Hickey, S. A. Bhide, P. M. Clarke, L. C. Renouf, K. Thway, A. Sibtain, I. A. McNeish, K. L. Newbold, H. Goldsweig, R. Coffin, and C. M. Nutting. 2010. 'Phase I/II study of oncolytic HSV GM-CSF in combination with radiotherapy and cisplatin in untreated stage III/IV squamous cell cancer of the head and neck', *Clin Cancer Res*, 16: 4005-15.
- Harrow, S., V. Papanastassiou, J. Harland, R. Mabbs, R. Petty, M. Fraser, D. Hadley, J. Patterson, S. M. Brown, and R. Rampling. 2004. 'HSV1716 injection into the brain adjacent to tumour following surgical resection of high-grade glioma: safety data and long-term survival', *Gene Ther*, 11: 1648-58.
- Heller, Loree. 2010. 'Electroporation Gene Therapy Preclinical and Clinical Trials for Melanoma', *Current Gene Therapy*, 10: 312-17.
- 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.
- Huang, Alex Y.C. et al. 1994. 'Role of Bone Marrow-Derived Cells in Presenting MHC Class I-Restricted Tumor Antigens', *Science*.
- Hunter, William D. et al. 1999. 'Attenuated, Replication-Competent Herpes Simplex Virus Type 1 Mutant G207: Safety Evaluation of Intracerebral Injection in Nonhuman Primates', *Journal of Virology*.
- Jerome, Keith R., and Rhoda Ashley Morrow. 2015. 'Herpes Simplex Viruses and Herpes B Virus.' in, *Manual of clinical microbiology*.
- Kimberlin, David W. 2005. 'Herpes Simplex Virus Infections in Neonates and Early Childhood', *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*.
- Kramer, Axel et al. 2006. 'How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review', *BioMed Central Infectious Diseases*.
- Kukhanova, M.K. et al. 2014. 'Human Herpes Simplex Virus: Life Cycle and Development of Inhibitors', *Biochemistry*.
- Lambricht, L. 2016. 'Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery', *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13:2: 295-310.
- 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*.
- Murikami. 2011. 'Plasmid DNA Gene Therapy by Electroporation: Principles and Recent Advances', *Current Gene Therapy*, 11: 447-56.
- Nerurkar, Lata S. et al. 1983. 'Survival of Herpes Simplex Virus in Water Specimens Collected From Hot Tubs in Spa Facilities and on Plastic Surfaces', *Jama*.
- Papanastassiou, V. et al. 2002. 'The potential for efficacy of the modified (ICP 34.5) herpes simplex virus HSV1716 following intratumoural injection into human malignant glioma: a proof of principle study', *Gene Therapy*.
- Perng, G. C., R. L. Thompson, N. M. Sawtell, W. E. Taylor, S. M. Slanina, H. Ghiasi, R. Kaiwar, A. B. Nesburn, and S. L. Wechsler. 1995. 'An avirulent ICP34.5 deletion mutant of herpes simplex virus type 1 is capable of in vivo spontaneous reactivation', *J Virol*, 69: 3033-41.
- Prince, Herbert N., and Daniel L. Prince. 2001. 'Principles of Viral Control and Transmission.' in Seymour S. Block (ed.), *Disinfection, Sterilization, and Preservation* (Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA).
- Rampling, R., G. Cruickshank, V. Papanastassiou, J. Nicoll, D. Hadley, D. Brennan, R. Petty, A. MacLean, J. Harland, E. McKie, R. Mabbs, and M. Brown. 2000. 'Toxicity evaluation of replication-competent herpes simplex virus (ICP 34.5 null mutant 1716) in patients with recurrent malignant glioma', *Gene Ther*, 7: 859-66.
- Senzer, Neil N. et al. 2009. 'Phase II Clinical Trial of a Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor-Encoding, Second-Generation Oncolytic

- Herpesvirus in Patients With Unresectable Metastatic Melanoma', *JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY*.
- Simpson, G. R., 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.
- Smith, Jill, Suzanne Thomas, Robert Coffin, and David Latchman. 2003. 'Examination of the potential interactions between herpes simplex virus vectors and replication-competent virus in vitro and in vivo', *Gene Therapy and Regulation*, 2: 29-47.
- Tischer, B. Karsten and Osterrieder, Nikolaus. 2010. 'Herpesviruses - a zoonotic threat?', *Vet Microbiol*.
- Valyi-Nagy, T., M. U. Fareed, J. S. O'Keefe, R. M. Gesser, A. R. MacLean, S. M. Brown, J. G. Spivack, and N. W. Fraser. 1994. 'The herpes simplex virus type 1 strain 17+ gamma 34.5 deletion mutant 1716 is avirulent in SCID mice', *J Gen Virol*, 75 (Pt 8): 2059-63.
- Varghese, Susan et al. 2001. 'Preclinical Safety Evaluation of G207, a Replication-Competent Herpes Simplex Virus Type 1, Inoculated Intraprostatically in Mice and Nonhuman Primates', *Human Gene Therapy*.
- Whitley, R.J. 1993. 'Neonatal Herpes Simplex Virus Infections', *Journal of Medical Virology*.
- Whitley, Richard et al. 1998. 'Herpes Simplex Virus', *Clinical Infectious Diseases*.
- Whitley, Richard J. . 2006. 'Herpes simplex encephalitis: Adolescents and adults', *Antiviral Research*.
- Wood, A & Payne, D. 1998. 'The action of three antiseptics/disinfectants against enveloped and non-enveloped viruses', *Journal of Hospital Infection*.