

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/25/07
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	31-03-2025
d) Título del proyecto:	Estudio clínico multicéntrico, aleatorizado y controlado de fase 3 que compara vusolimogén oderparepvec en combinación con nivolumab frente a un tratamiento a elección del médico en pacientes con melanoma avanzado que ha progresado con un régimen de tratamiento que contiene antiPD-1 y anti-CTLA-4 [IGNYTE-3]
e) Período propuesto para la liberación:	Desde el 1 de julio de 2025 hasta el 31 de diciembre de 2030

2. Notificador

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

3. Definición del OMG

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

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

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Grupo: ADN de doble cadena; Género: Virus simplex

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

RP1 utiliza el vector viral VHS-1 con modificaciones de transgenes que le permiten replicarse selectivamente en el tejido tumoral humano y con delecciones bien caracterizadas (es decir, delección de ICP34.5) que hacen que el virus no sea patogénico.

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

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

Además, se utilizó el MVSS de RP1 para generar dos lotes consecutivos y la secuencia del genoma completo del segundo lote producido secuencialmente (equivalente a un lote de postproducción) procedente del MVSS de RP1 se obtuvo por secuenciación de próxima generación. No se hallaron diferencias, lo que confirma que el genotipo era estable. Dado que la PCR es el método más sensible y específico de diagnóstico de la infección por VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS-1) (Whitley *et al*, 1998, doi.org/10.1086/514600); cada lote clínico se somete a un test de identidad mediante qPCR para confirmar la presencia del inserto GALV-R-/hGM-CSF.

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

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

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
<ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: FR, BG, IT EL, PL, ES - Número de la notificación: B/ES/20/25 y B/ES/21/15 	

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
<ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: EE. UU., Australia, Reino Unido, Canadá - Número de la notificación: EE. UU. (IND 17922); Australia (CT-2019-CTN-02844-1); Reino Unido (46616/0001/001-0001 y 50765/0004/001-0001); Canadá (n.º de control: 243482) 	

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

El posible impacto medioambiental del OGM es menor que el del organismo parental, VHS-1. Al igual que el VHS-1 de tipo natural, RP1 no sobrevive mucho tiempo fuera del huésped RP1 y VHS-1 son virus con cubiertas sensibles tanto a la inactivación física como a los desinfectantes. La reversión de RP1 a la cepa natural en el entorno no es posible, ya que el virus necesita estar dentro de las células humanas. La competencia con el virus VHS-1 de tipo natural u otras especies en el medio ambiente no es posible, ya que el virus necesita estar dentro de las células humanas para replicarse. RP1 se utilizará en centros médicos bajo un estricto control. El lugar de la inyección se cubrirá con un apósito. Existen procedimientos establecidos para la gestión y eliminación de los residuos cuyo objetivo es impedir la diseminación.

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

1. Identificación del organismo receptor o parental

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

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Herpesvirales
ii) Género: Virus simplex
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

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

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

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

Sí

No

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

Sí

No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

El único hábitat natural conocido para el VHS-1 de tipo natural 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, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.06.020).

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, doi.org/10.1086/514600).

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:

Según la Directiva 2000/54/CE de la Unión Europea (UE), el VHS-1 de tipo natural está clasificado en el Grupo de Riesgo 2. La directiva establece que un agente biológico del Grupo de Riesgo 2 es «un agente biológico que puede provocar enfermedad en humanos y puede constituir un riesgo para los trabajadores; es poco probable que se propague entre la población general; suele disponerse de profilaxis o tratamiento efectivos».

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

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 natural se describe a continuación:

Herpes labial/calentura

La primoinfección con VHS-1 se suele adquirir en la niñez y puede ser asintomática o subclínica (Jerome, 2007, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98; Kimberlin, 2005, doi: 10.1053/j.spid.2005.06.007). Las primoinfecciones sintomáticas cursan principalmente como gingivoestomatitis, con fiebre, dolor de garganta, halitosis, anorexia, adenopatía cervical y edema en la mucosa, así como lesiones dolorosas vesicales y ulcerosas en la mucosa bucal, lengua, encías y faringe (Jerome, 2007, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98; Kimberlin, 2005, doi: 10.1053/j.spid.2005.06.007; Miller, 2007, doi: 10.1111/j.1600-6143.2006.01718.x). Las úlceras se resuelven sin dejar cicatriz en el plazo de 2-3 semanas (Jerome, 2007, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98). Las infecciones recurrentes suelen presentar síntomas y un curso clínico más leves (Jerome, 2007, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98). Las lesiones recurrentes por VHS-1 presentan en una zona específica del labio (borde el bermellón del labio) y se denominan «calenturas» o «herpes labial» (Kimberlin, 2005, doi: 10.1053/j.spid.2005.06.007). Las lesiones se resuelven en aproximadamente 8-10 días (Kimberlin, 2005, doi: 10.1053/j.spid.2005.06.007).

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, doi: 10.1097/00004397-200604620-00005).

Encefalitis

Infecciones graves del SNC, que afectan tanto a niños como a adolescentes (Whitley, 2006, doi: 10.1016/j.antiviral.2006.04.002). Pueden deberse a infección primaria o latente con el virus VHS-1 (Whitley, 2006, doi: 10.1016/j.antiviral.2006.04.002). La encefalitis provocada por VHS afecta a un lóbulo temporal y conlleva signos neurológicos y edema. La enfermedad puede ser mortal (tasa de mortalidad del 70 %), si no se trata (Whitley, 2006, doi: 10.1016/j.antiviral.2006.04.002).

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 inflamación de los ganglios linfáticos, fiebre, malestar general y mialgias. En casos infrecuentes, esta enfermedad también puede causar meningitis aséptica con rigidez en el cuello y dolor de cabeza intenso. 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, doi: 10.1053/j.spid.2005.06.007).

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 aproximadamente entre 18 y 20 horas (Kukhanova, 2014, doi: 10.1134/S0006297914130124). El único reservorio natural es el ser humano (Jerome, 2007, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98) y la infección no humana es infrecuente. Además, no se tiene conocimiento de que el VHS-1 de tipo natural sea zoonótico.

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

El VHS-1 de tipo natural es conocido por ser un patógeno humano que depende de su organismo huésped para la replicación asexual en un ciclo de reproducción corto de aproximadamente entre 18 y 20 horas (Kukhanova, 2014, doi: 10.1134/S0006297914130124) 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, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98) 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, doi: 10.1016/j.vetmic.2009.06.020). 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 recombinante, al igual que el VHS-1 natural, es extremadamente susceptible a la deshidratación y se inactiva rápidamente fuera del huésped (Baldo, 2013, doi: 10.2174/15665232113136660005).

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 natural 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, doi 10.1128/jcm.26.2.213-215.1988). 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, doi:10.1128/jcm.26.2.213-215.1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998, doi: 10.1016/s0195-6701(98)90077-9). 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, ISBN-10:0812108639).

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, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98).

9. Capacidad de supervivencia

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

i) endosporas

ii) quistes

iii) esclerocios

iv) esporas asexuales(hongos)

v) esporas sexuales (hongos)

vi) huevos

vii) pupas

viii) larvas

ix) otras (especificíquense): Esta sección no es aplicable.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El VHS-1 es un virus con cubierta que es sensible tanto a la inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) como a los desinfectantes (solventes lipídicos y detergentes suaves), que lo inactivan de forma rápida. El virus VHS de tipo natural 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, doi: 10.1016/j.1047/s.1047). 10.1128/jcm.26.2.213-215.1988). En cuanto a los desinfectantes, el virus VHS se puede inactivar con Lysol al 0,5 % en 5 min.; Listerine (mezclas 1:1) en 5 min.; 2000 ppm (2000 µl/l) de lejía en 10 min.; y alcohol (mezclas 1:1) (Croughan, 1988, doi: 10.1016/j.1016.1016). 10.1128/jcm.26.2.213-215.1988). El VHS también es sensible a compuestos de amonio cuaternario (Wood, 1998, doi: 10.1016/s0195-6701(98)90077-9). 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, ISBN-10:0812108639).

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, doi.org/10.1128/9781555817381.ch98).

El virus VHS sobrevive durante periodos de tiempo cortos fuera del huésped (Chayavichitsilp, 2009, doi: 10.1542/pir.30-4-119). 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, doi.org/10.1186/1471-2334-6-130).

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, doi:10.1001/jama.1983.03340220049032). 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 PMID: 2554099, 1990 PMID: 2172749, 1993 PMID: 8395643, 1994 PMID: 8170405).

10. a) Vías de diseminación

El modo de transmisión del VHS-1 de tipo natural 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 natural. La infectividad del VHS-1 de tipo natural depende en parte de tener la envoltura intacta; por lo tanto, cualquier agente químico (solventes lipídicos y detergentes suaves) o inactivación física (deshidratación, calor, pH bajo) que afecte a la envoltura reduce la infectividad.

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

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

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

RP1 se construyó utilizando una nueva cepa de VHS-1 (cepa RH018). El factor de neurovirulencia codificado por los genes codificadores del VHS-1 (ICP34.5) y el inhibidor de procesamiento de antígeno codificado por el gen codificador del VHS-1 (ICP47) se eliminaron del virus. La eliminación 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 eliminación de ICP47 en RP1 es mejorar la presentación de antígenos virales y tumorales en las células infectadas, de forma que constituyan mejores dianas para el sistema inmune del huésped. La eliminación de ICP47 en RP1 también conlleva un aumento en la expresión de la proteína viral VHS-1 US11 (Mohr, 1996, doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00853.x). US11 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, doi: 10.1128/JVI.75.11.5189-5196.2001). 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 humanos (hGM-CSF). La activación de la respuesta inmunitaria mediante GM-CSF

tras la inyección intratumoral del virus genéticamente modificado (GM) tiene por objeto provocar una respuesta inmunitaria causando la afluencia y activación de células dendríticas. El aumento del número 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, doi: 10.1073/pnas.90.8.3539; Huang 1994, doi: 10.1126/science.7513904).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

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

La eliminación 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, doi: 10.1002/rmv.691)

El objetivo de la eliminación de ICP47 en RP1 es mejorar la presentación de antígenos virales y tumorales en las células infectadas, de forma que estas constituyan mejores dianas para el sistema inmune del huésped. La eliminación de ICP47 en el virus RP1 también conlleva el aumento en la expresión de la proteína viral US11 del VHS-1 (Mohr 1996, doi.org/10.1002/j.1460-2075.1996.tb00853.x). 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, doi: 10.1128/JVI.75.11.5189-5196.2001).

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.

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense): Integrado dentro del genoma del VHS-1

e) ¿Contiene el fragmento de inserción de partes cuyo producto o función no se conoce?

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): Primate
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 se refiere a capacidad de supervivencia?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
RP1 sería incapaz de competir con las cepas existentes del VHS-1 de tipo natural, ya que se ha eliminado el gen ICP34.5, que es necesario para la patogenicidad del virus y para que el virus pueda replicarse de forma eficaz en el tejido normal.		

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

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

No es posible que RP1 restaure espontáneamente la patogenicidad mediante, por ejemplo, la recuperación de ICP34.5, ya que ICP34.5 no está presente en RP1. Cuando varias cepas diferentes de VHS-1 se están replicando en la misma célula, puede observarse recombinación homóloga espontánea entre sus genomas. No obstante, es muy poco probable que pueda haber recombinación entre RP1 y VHS-1 de tipo natural, ya que eso implicaría que una misma célula se ha infectado simultáneamente con RP1 y con VHS-1 de tipo natural. Cabe esperar que el VHS-1 de tipo natural se encuentre solamente en las calenturas o en otros lugares con infección activa de VHS, y RP1 no se administra en esos lugares, sino en tumores. RP1 no es capaz de replicarse y diseminarse de forma eficaz en el tejido normal, lo que significa que, además, es muy poco probable que RP1 esté presente y

replicándose en el mismo tejido que el VHS-1 de tipo natural.

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, doi: 10.1163/156855803762295413). Por lo tanto, incluso si RP1 y el VHS-1 de tipo natural estuvieran presentes y replicándose en una misma célula y hubiera recombinación, esta sería homóloga, lo que significa que cualquier transferencia de ADN entre RP1 y el VHS-1 de tipo natural se daría desde o hasta la misma ubicación. El casete de expresión GM-CSF/GALV que hay en RP1 está insertado en lugar del gen ICP34.5.

Por lo tanto, la transferencia mediante recombinación de este casete a una cepa de tipo natural se haría en el locus de ICP34.5, lo que acarrearía la delección del gen ICP34.5. Esto significa que, en términos de habilidad para la reproducción, los virus resultantes quedarían inhabilitados de forma similar a RP1 (y, por lo tanto, tendrían una desventaja evolutiva en relación con la población de VHS-1 de tipo natural). 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 se produzca recombinación entre virus en el entorno, tal y como puede suceder con las bacterias.

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

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

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

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

La PCR es el método más sensible y específico de diagnóstico de la infección del VHS en laboratorio (sensibilidad del 96 % y especificidad del 99 % para el VHS1; Whitley et al, 1998, doi.org/10.1086/514600). Se ha desarrollado un ensayo de qPCR para identificar el rVHS-1/hGM-CSF/GALV-GP-R- (RP1).

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

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

F. Información sobre la liberación

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

Se propone administrar RP1 como inyección intratumoral (IT) a pacientes con melanoma avanzado que ha progresado con un régimen de tratamiento que contiene anti-PD-1 y anti-CTLA-4. Esto se llevará a cabo en un estudio clínico de fase 3, aleatorizado, controlado y multicéntrico para comparar el OMG (RP1) en combinación con nivolumab frente al tratamiento de elección del médico (RP1-014, IGENCYTE-3). No se esperan beneficios ni inconvenientes ambientales potenciales significativos de la liberación prevista.

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:

La liberación se realizará en un centro médico (es decir, un centro clínico), donde los sujetos recibirán RP1 administrado por profesionales sanitarios formados en un entorno controlado.

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

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

Hospital Clínic de Barcelona (Hospital Clínic i Provincial), Barcelona;
Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona;
Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia;
Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Madrid;
Clinica Universitaria de Navarra, Pamplona;
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

b) Superficie del lugar (m²):

i) lugar real de la liberación (m²):

ii) área de liberación más amplia (m²):

El tamaño de cada centro variará, sin embargo el centro en el que se lleve a cabo la administración del RP1, se seguirán las políticas institucionales adecuadas para mantener la contaminación al mínimo.

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que puedan verse afectados:

Se prevé utilizar RP1 en centros médicos para el tratamiento de pacientes con cáncer. Se inyecta directamente dentro del tumor del paciente y el lugar de inyección se cubre con un apósito oclusivo para mitigar el riesgo de posible transferencia de RP1 a terceros; la exposición de los biotipos, zonas protegidas y depósitos de agua potable es muy improbable. En los centros clínicos, todos los residuos recibirán el mismo tratamiento que los demás desechos de productos humanos y se enviarán fuera del centro para su autoclavado y eliminación. Como el organismo parental se inactiva fácilmente fuera de su huésped y no tiene vectores conocidos, es improbable que los biotipos se vean afectados.

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

Tanto el VHS-1 de tipo natural como el VHS-1 recombinante son extremadamente susceptibles a la deshidratación, y se inactivan fácilmente fuera de su huésped (Baldo, 2013, doi: 10.2174/15665232113136660005). RP1 (rVHS-1/hGM-CSF/GALV-GP-R-) se inactiva de la misma forma que el VHS-1 de tipo natural, ya que las modificaciones no influyen en la viabilidad del virus. Por lo tanto, no se espera que se vea afectada ninguna flora ni fauna, incluidas las plantas de interés agrícola, el ganado y las especies migratorias.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

PFU total proyectada

(Dosis) x (Volumen de dosis por paciente) x (número de pacientes) = PFU total proyectada

Primera dosis: $(1 \times 10^6 \text{ PFU/mL}) \times (10 \text{ mL}) \times (200) = 2 \times 10^9 \text{ PFU}$

Dosis posteriores: $(1 \times 10^7 \text{ PFU/mL}) \times (70 \text{ mL}) \times (200) = 1,4 \times 10^{11} \text{ PFU}$

Volumen total proyectado

(Volumen de dosis por paciente) x (número de pacientes) = Volumen total proyectado

Primera dosis: $(10 \text{ mL}) \times (200) = 2000 \text{ mL}$

Dosis posteriores: $(70 \text{ mL}) \times (200) = 14000 \text{ mL}$

Estimación general de la cantidad de RP1

Primera dosis + dosis posteriores = $1,42 \times 10^{11} \text{ PFU} / 16000 \text{ mL}$

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 RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro. En caso de vertido accidental, el centro seguirá sus propios procedimientos de limpieza.

Medidas de seguridad: Cada dosis de RP1 se administrará IT utilizando una o más jeringas adecuadas. La administración de RP1 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manipulación de materiales infecciosos. El equipo de protección personal (EPP) incluirá una bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que exista la posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda llevar protección ocular o mascarilla en caso de salpicaduras. Todo el personal que manipule OGM con instrumentos cortopunzantes debe tener formación médica y amplia 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 manipulación segura 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 inactivarse mediante calor. Una temperatura superior a 56°C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, y también se puede inactivar siguiendo los procedimientos del centro.

En caso de autoinoculación, se aconseja potenciar 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 utilizar un desinfectante cutáneo. Un médico debe vigilar los signos de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

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

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

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

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

La biodistribución y excreción de RP1 se han monitorizado en tres estudios clínicos: IGNYTE, CERPASS y ARTACUS. Para ello, se recogieron muestras de sangre, orina e hisopos del lugar de la inyección, del apósito del lugar de la inyección y de la mucosa/saliva oral antes de la administración de la dosis, durante el tratamiento y a los 30 y 60 días después de la última inyección de RP1 y hasta 100 días después de la última dosis del tratamiento del estudio (RP1 o terapia combinada). Además, en un subconjunto de pacientes, se recogieron muestras a las 6, 24 y 48 horas después de las 3 primeras inyecciones de RP1. Se recogieron muestras de hisopos de todas las zonas que parecían tener sospecha de infección herpética. También se recogieron muestras de sangre cada vez que un paciente experimentaba una enfermedad febril inexplicable. El número de copias del genoma RP1 presente en muestras de pacientes tratados con RP1 se evaluó mediante un ensayo qPCR que es específico para el ADN de RP1. Todas las muestras de hisopos que dieron positivo para el ADN de RP1 se analizaron adicionalmente para detectar la presencia de virus vivos mediante un ensayo de dosis infecciosa de cultivo de tejido (DICT50).

Los resultados mostraron que el ADN de RP1 se detectó en la superficie de los lugares de inyección a niveles más altos en comparación con otros lugares de recogida durante un período de 15 días posdosis, y luego disminuyó con el tiempo hasta 60 días después de la última dosis de RP1. Los niveles de ADN de RP1 detectados en otros lugares fueron mucho más bajos y transitorios.

Según los datos disponibles hasta la fecha, la posibilidad de transmisión de RP1 a través del contacto es mínima. No ha habido informes confirmados de infecciones sistémicas graves por VHS-1 transmitidas por pacientes inyectados con RP1 a sus cuidadores o al personal del estudio.

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): Primate
ii) Familia (plantas):
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecies:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/Línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Humanos

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

i) Orden y taxón superior (animales): Ninguno
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) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

No es posible que RP1 restaure espontáneamente la patogenicidad mediante, por ejemplo, la recuperación de ICP34.5, ya que ICP34.5 no está presente en las células utilizadas para la producción de las reservas virales.

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

Se ha demostrado experimentalmente que la recombinación no homóloga (recombinación entre regiones diferentes de los dos genomas del VHS-1) no ocurre a niveles detectables entre cepas de VHS (Smith et al., 2003, doi: 10.1163/156855803762295413). Por lo tanto, incluso si RP1 y el VHS-1 de tipo silvestre estuvieran presentes y replicándose en una misma célula y hubiera recombinación, ésta sería homóloga, lo que significa que cualquier transferencia de ADN entre RP1 y el VHS-1 de tipo natural se daría desde o hasta la misma ubicación genética. Por lo tanto, la transferencia recombinante de este casete a una cepa de tipo silvestre se haría en el locus de ICP34.5, lo que acarrearía la delección del gen ICP34.5. Esto significa que, en términos de capacidad replicativa, los virus resultantes quedarían inhabilitados de forma similar a RP1 (y por lo tanto tendrían una desventaja evolutiva en relación con la población de VHS 1 de tipo natural). 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 se produzca recombinación entre virus en el entorno, tal y como puede suceder con las bacterias.

b) De otros organismos al OMG:

Competencia con especies existentes: RP1 sería incapaz de competir con las cepas existentes del VHS-1 de tipo natural, 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:

RP1 se construyó de tal manera que se eliminaron ambos genes, ICP34.5 e ICP47. Con estas eliminaciones se eliminaron 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, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0196; Harrow, 2004, doi: 10.1038/sj.gt.3302289; Hu, 2006, doi: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0759; Hunter, 1999, doi: 10.1128/JVI.73.8.6319-6326.1999; Mace, 2008, doi: 10.1002/hed.20840; MacKie, 2001, doi: 10.1016/S0140-6736(00)04048-4; Papanastassiou, 2002, doi: 10.1038/sj.gt.3301664; Perng, 1995, doi: 10.1128/JVI.69.5.3033-3041.1995; Rampling, 2000, doi: 10.1038/sj.gt.3301184; Senzer, 2009, doi: 10.1200/JCO.2009.24.3675; Valyi-Nagy, 1994, doi: 10.1099/0022-1317-75-8-2059; Varghese, 2001, doi: 10.1089/104303401750195944; Whitley, 1993, doi.org/10.1002/jmv.1890410505).

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

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

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

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

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

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

Las muestras que se evaluarán serán: sangre, orina, frotis bucal, frotis del lugar de inyección, frotis del exterior del apósito y biopsia tumoral.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Es improbable que RP1 se establezca en el medioambiente, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP1 se utilizará en un entorno clínico controlado y no tendrá ninguna interacción con otros OMG. La vía principal de excreción es en el lugar de inyección. Los lugares de inyección se cubrirán con apósitos oclusivos inmediatamente tras la inyección. Para obtener más información sobre los datos de biodistribución relativos a la excreción desde el apósito oclusivo, remítase a la sección F6.

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

Remítase a la sección E.4 para obtener más información.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

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

Medidas de seguridad: Cada dosis de RP1 se administrará IT usando una o varias jeringas adecuadas. La administración de RP1 se realizará en centros hospitalarios y correrá a cargo de profesionales de la salud experimentados y familiarizados con los productos de terapia génica, y con formación adecuada en los procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y manejo de materiales infecciosos. El equipo de protección personal (EPP) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda utilizar protectores oculares o máscaras en caso de salpicaduras. Todo el personal que manipule OGM con instrumentos punzocortantes deberá estar capacitado médicamente y tener experiencia en las técnicas apropiadas. Como

el(los) ensayo(s) se realizará(n) en hospitales, el personal médico y farmacéutico tiene experiencia en técnicas de manipulación segura 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 mediante temperatura. Una temperatura superior a 56 °C durante 30 minutos elimina la infectividad. Además, RP1 también se inactiva fácilmente con solventes líquidos o exposición a pH extremos, o también puede inactivarse siguiendo la política institucional.

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

5. Duración del seguimiento

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

6. Frecuencia del seguimiento

Se tomarán muestras de sangre, orina, saliva/mucosa oral e hisopos en el lugar de la inyección el día 1 antes de la dosis. También se recogerán muestras a los 30 y 60 días (+/- 7 días) tras la última dosis de RP1 (ciclo inicial y ciclos adicionales). Se tomarán muestras adicionales 100 días (+/- 7 días) después de la última dosis de nivolumab. Se recogerán muestras de sangre cada vez que se produzca una enfermedad febril de grado 3 o superior.

Se recogerán muestras de hisopos del apósito exterior a los 30 y 60 días (+/- 7 días) tras la última dosis de RP1 (ciclo inicial y ciclos adicionales). Se tomarán muestras adicionales 100 días (+/- 7 días) después de la última dosis de nivolumab.

Se recogerán muestras de lesiones que parezcan herpéticas (hisopos) en cualquier momento en que haya sospecha de infección vírica relacionada con RP1.

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

La duración del estudio será la siguiente: Selección (hasta 28 días), hasta 105 semanas de tratamiento, hasta 100 días de seguimiento y 3 años de seguimiento de la supervivencia.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todos los viales y jeringas de RP1 usados y no utilizados deben destruirse según la política institucional. 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 según la política del hospital. El área donde se atiende al paciente será descontaminada según lo indiquen los procedimientos de limpieza institucional. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro.

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

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

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Consulte la sección I.3.b. a continuación.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los desechos generados con la administración consistirán en viales y agujas usados, hisopos usados y materiales relacionados utilizados para limpiar la zona inyectada, apósitos usados aplicados en los lugares de inyección, equipo de protección personal (EPP) utilizado desde el inicio del procedimiento (es decir, la administración de RP1) y al reemplazar o retirar el apósito usado.

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

3. (b) Tratamiento de residuos

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

Dado que RP1 se administrará en un centro médico, los desechos producidos en el centro se eliminarán de acuerdo con las prácticas estándar del centro para la

eliminación de desechos médicos.

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. Cualquier vendaje adicional, guantes desechables y bolsas resellables que se le entreguen al sujeto del estudio deben estar sujetos a instrucciones que cumplan con pautas específicas para minimizar el riesgo de exposición no intencionada al medio ambiente.

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 utilizar un desinfectante cutáneo. Un médico debe vigilar los signos de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

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

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 entorno, y se ceñirán a ellas. Las superficies de trabajo y los materiales que puedan estar en contacto con RP1 se descontaminarán con desinfectantes adecuados (como hipoclorito sódico), de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro. En caso de vertido accidental, el centro seguirá sus propios procedimientos de limpieza. Los vectores virales derivados del VHS, como RP1, son sensibles a los métodos comunes de inactivación que se aplican a los agentes microbianos (Baldo et al., 2013, doi: 10.2174/15665232113136660005).

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

institucional.

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

El equipo de protección personal (EPP) incluirá bata de laboratorio y guantes, que se llevarán siempre que haya posibilidad de contacto directo de la piel con el virus. Se recomienda utilizar protectores oculares o máscaras en caso de salpicaduras.

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

Es improbable que RP1 se establezca en el medioambiente, ya que el VHS-1 se inactiva fácilmente fuera de su huésped humano. Además, RP1 se utilizará en un entorno clínico controlado y no tendrá ninguna interacción con otros OMG. La vía principal de excreción es en el lugar de inyección. Los lugares de inyección se cubrirán con apósitos oclusivos inmediatamente después de la inyección y se sustituirán según sea necesario hasta la siguiente visita del ensayo. RP1 no infecta plantas ni afecta al entorno biogeoquímico. No se tiene conocimiento de que el VHS-1 tenga capacidad para la zoonosis y es raro que los herpesvirus provoquen infecciones en otras especies.

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

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

En caso de exposición accidental debida a salpicadura a los ojos o las membranas mucosas, se deberá lavar la zona con agua limpia en grandes cantidades durante al menos 15 minutos. En caso de exposición en la piel abierta o por pinchazo con aguja, se deberá lavar exhaustivamente la zona con agua y jabón, o utilizar un desinfectante cutáneo. Un médico debe vigilar los signos de infección. Se podrá administrar aciclovir u otros fármacos antivirales similares de forma profiláctica.

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

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