

**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**

NOTIFICACIÓN Nº B/ES/24/26

MVA-HBVac

TherVacB_1b2a_1 Clinical Trial

(EU-CT No.: 2023-507623-36-00)

Versión 2.0

21 de agosto de 2024

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/24/26
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	
d) Título del proyecto:	TherVacB - Ensayo multicéntrico de fase 1b/2a para evaluar la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de una vacuna terapéutica de proteína heteróloga/refuerzo con MVA contra la hepatitis B
e) Período propuesto para la liberación:	2024-10-01 - 2027-03-31

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Klinikum der Universitaet Muenchen AÖR Alemania
-------------------------------------	---

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 <input type="checkbox"/>
	- peces <input type="checkbox"/>
	- otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	no aplicable
b) Identidad del OMG (género y especie)	Virus vaccinia modificado recombinante Ankara que codifica un casete de expresión multicistónico que codifica cinco antígenos proteicos del virus de la hepatitis B (VHB) separados por secuencias 2A autocitricizadas del Teschovirus porcino y del virus Thosa asigna: MVA-HBVac.

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

Características generales del vector MVA: El MVA es una cepa genéticamente estable del virus vaccinia que no integra su ADN viral en el genoma de la célula huésped, ya que el virus permanece localizado en el citoplasma celular. En términos de estabilidad genética, el MVA es un virus de ADN de doble cadena y, como todos los ortopoxvirus, codifica su propia ADN polimerasa que desempeña una función de corrección de pruebas que se traduce en tasas de mutación típicamente bajas de un pasaje al siguiente. La estabilidad genética del OGM MVA-HBVac ha sido evaluada y demostrada mediante pruebas analíticas realizadas a lo largo del desarrollo, desde la semilla inicial del virus hasta el banco maestro de virus (MVB), y en diferentes etapas durante la fabricación del material preclínico y clínico. La estabilidad genética del OGM MVA-HBVac se verifica en varios pasos mediante la evaluación de la identidad, pureza, potencia y extensas pruebas de seguridad. Las medidas analíticas incluyen la determinación del título infeccioso en cultivo celular permisivo, secuenciación del ADN del transgén, análisis de restricción, pruebas de identidad y pureza mediante amplificación por PCR de secuencias diana especificadas. La estabilidad a largo plazo del material MVA-HBVac MVB y del lote clínico inicial de la vacuna OGM cuando se almacenan congelados a temperaturas <-60C se seguirá de acuerdo con planes de estabilidad predefinidos hasta 60 meses y 48 meses, respectivamente. Se dispone de datos de estabilidad de material comparable tras 12 meses de almacenamiento que indican que no hay cambios en la estabilidad de la vacuna MVA-HBVac OGM.

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

Sí

No

En caso afirmativo, indique el código del país: DE, IT

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: Alemania
- Número de la notificación: B/DE/22/PEI5070 y B/DE/24/PEIPO1428

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación:
- Número de la notificación:

7. **Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OGM**

La liberación de MVA-HBVac OGM se considera de riesgo insignificante para el medio ambiente. MVA recombinantes previamente clasificados como OGM BSL1 (BVL-ZKBS), ampliamente estudiados en >90 ensayos clínicos y estudios de campo en los que participaron >120.000 individuos. Los primeros productos vacunales basados en MVA registrados como fármacos por la empresa Bavarian Nordic (<http://www.bavarian-nordic.com/>) con los siguientes detalles: la empresa utiliza su plataforma tecnológica patentada MVA-BN para desarrollar una amplia cartera de vacunas contra enfermedades

infecciosas. El programa principal es una vacuna contra la viruela no replicante basada en MVA-BN, autorizada en la Unión Europea con el nombre comercial IMVANEX y en Canadá con el nombre comercial IMVAMUNE. La vacuna se está suministrando a la Reserva Estratégica Nacional de EE.UU. para uso de emergencia y la empresa está completando los estudios clínicos de fase 3 necesarios para obtener la licencia de la vacuna en EE.UU.

Para MVA se considera que la manipulación de MVA recombinantes o vectores derivados de MVA requiere un nivel de seguridad 1, ya que es una cepa altamente atenuada del virus y deficiente para la replicación en células humanas. Además, tiene un rango de huéspedes muy limitado, no es virulento en animales y no es causante de enfermedad en humanos.

La única vía por la que el MVA podría propagarse al medio ambiente es mediante el derrame de un vial intacto pero abierto o de un vial dañado, accidente por pincharse con una aguja, una fuga en el lugar de la inyección o por exposición a residuos contaminados. Sin embargo, el riesgo de que otra persona (o ser no humano) se infecte es mínimo. En el sujeto de ensayo, el virus residual puede propagarse desde el lugar de la inyección a través de la sangre o la linfa. Los datos procedentes del análisis de la distribución in vivo del MVA sugieren que no se produce replicación del virus y que la infección es estrictamente autolimitada: por ejemplo, tras la inoculación de una dosis elevada de MVA en primates no humanos inmunodeprimidos, se pueden detectar genomas virales en células epiteliales faríngeas, PBMC (células mononucleares de sangre periférica) y ganglios linfáticos de drenaje hasta dos semanas después de la inyección. Sin embargo, no fue posible volver a aislar ningún MVA viable de estos animales (Stittelaar KJ et al. 2001).

El VHB está clasificado como organismo BSL3. La inserción de las secuencias codificadoras del VHB en el esqueleto del MVA establece propiedades de expresión de antígenos relevantes para el VHB en el OMG recombinante, manteniendo al mismo tiempo la estricta deficiencia de replicación del MVA recombinante (datos no publicados). Así pues, la modificación genética y el sustrato celular en el que se cultiva el OMG, en este caso células DF-1, no alteran la deficiencia de replicación del MVA ni su posible vía de propagación.

En general, el riesgo potencial para el medio ambiente o la salud humana se considera insignificante.

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)	
Reino: Bamfordvirae	
Phylum: Nucleocyotoviricota	
Clase: Pokkesviricetes	
Otros, (especifíquense): no aplicable	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Family: Poxviridae. Subfamily: Chordopoxvirinae
ii) Género: Orthopoxvirus
iii) Especie: Vaccinia Virus
iv) Subespecie: no aplicable
v) Cepa: Modified Vaccinia virus Ankara (MVA)
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): no aplicable
vii) Nombre vulgar: Modified Vaccinia virus Ankara (MVA)

3. Distribución geográfica del organismo

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

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?
Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input 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): Sin huésped natural, el MVA es una cepa de laboratorio generada por adaptación a fibroblastos de embrión de pollo como célula huésped. Históricamente, se cree que el virus vaccinia tiene su origen en una especie huésped bovina o equina.
b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: no aplicable

5. a) Técnicas de detección

El virus Vaccinia Ankara modificado (MVA) puede detectarse mediante la propagación de especímenes en fibroblastos de embrión de pollo (CEF) o en líneas celulares específicas (por ejemplo, BHK-21). El genoma del MVA o los productos génicos del MVA (ARN) pueden detectarse mediante PCR o RT-PCR.

5. b) Técnicas de identificación

Se han desarrollado ensayos basados en la PCR que permiten diferenciar entre virus vaccinia patógenos humanos y cepas atenuadas de MVA. Para diferenciar entre MVA y otras cepas de vaccinia, estos ensayos aprovechan el hecho de que el MVA ha perdido alrededor del 15% de su genoma en comparación con otros virus vaccinia con seis regiones de delección principales descritas (Del-I, -II, -III, -IV, -V y -VI).

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

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

En caso afirmativo, especifíquese:

El virus vaccinia humano (VV) está clasificado como agente biológico del grupo 2 (BSL2) según la clasificación de la CEE para la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos (Directiva 2000/54/CE). La designación BSL2 se aplica a los agentes que pueden causar enfermedades humanas y pueden suponer un peligro para los trabajadores, que es poco probable que se propaguen a la comunidad y para los que suele disponerse de profilaxis o tratamiento eficaces.

La cepa parental del MVA utilizada aquí, que es en algunas partes similar al VV, no está clasificada por la directiva de la CEE: sin embargo, la mayoría de las autoridades competentes consideran que el MVA pertenece al grupo de peligro BSL1 - por ejemplo, el BVL-ZKBS en Alemania (véase bibliografía: Position statement of the ZKBS on Vaccinia virus MVA, 2018), ya que es una cepa altamente atenuada del VV que es de replicación deficiente en células humanas, exhibe un rango de hospedador severamente limitado para la infectividad, no es virulento para los animales y es incapaz de causar enfermedad humana (Goosens et al. 2013).

No se han publicado informes de transmisión del MVA al personal sanitario de receptores de vacunas. Además, el personal de laboratorio y otro personal sanitario que trabaja con cepas altamente atenuadas del VV (incluida la MVA) no requieren vacunación sistemática contra la vaccinia.

7. ¿Es el organismo receptor, 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		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<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 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.		
No aplicable		

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No se aplica. El MVA no se encuentra en el medio ambiente ni en los ecosistemas naturales y no tiene reservorios animales conocidos. El MVA exhibe una severa restricción de células huésped, y se replica bien sólo en cultivos celulares primarios de CEF y en las líneas celulares continuas. Por lo tanto, MVA sólo existe en un entorno de laboratorio.		
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: No es aplicable. Los organismos receptores con replicación defectuosa no se generarán en el ecosistema donde tendrá lugar la liberación.		
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/>	Asexual <input checked="" type="checkbox"/>

d) Factores que afectan a la reproducción: La adaptación del crecimiento del virus a las células de pollo resultó en la supresión de >30 kb de información genética y una fuerte restricción del rango de hospedador determinada principalmente por la pérdida de genes virales que regulan las funciones del hospedador; el MVA es deficiente en la replicación en células de origen humano y de mamíferos debido en parte a la ausencia del gen K1L del rango de hospedador (Meyer H et al. 1991).

9. Capacidad de supervivencia

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

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

ix) otras (especifíquense) Como es bien sabido para todos los poxvirus, se espera que el MVA unido a células muestre una gran estabilidad ambiental con una alta resistencia a la desecación; el MVA purificado, como el presente en las preparaciones de vacunas, es menos resistente en el entorno general.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia: Temperatura, humedad, luz ultravioleta

No se espera la supervivencia del MVA ya que se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del sitio de inoculación.

10. a) Vías de diseminación

Los estudios clínicos en humanos realizados con construcciones similares de MVA, administrados por vía intramuscular, han sido incapaces de detectar la excreción del vector en muestras biológicas (esputo, saliva, orina, heces) (Goossens et al. 2013).

10. b) Factores que afectan a la diseminación

El MVA es incompetente para la replicación y, por lo tanto, una infección con él sigue siendo autolimitada. El MVA no puede sobrevivir, diseminarse y/o desplazar a otros organismos y no es patógeno para animales o plantas.

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 ha notificado la liberación de modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental en España.

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 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

Inserción de un promotor sintético (PH5), la secuencia codificante de las proteínas virales HBs(S) (GenBank acc. no. X02763), HBs(PreS/S) (GenBank acc. no. ABV02797), HBc1-149 (GenBank acc. no. V01460), HBc (secuencia consenso del genotipo C, GenBank acc. NP_647607), RT (Pol) (derivada del GenBank acc. no. AFY09280), que están separadas por las secuencias 2A de autoescisión del teschovirus porcino-1 (P2A) y del virus thosa asigna (T2A) en el sitio de delección III del genoma MVA. Tras la infección de una célula por el MVA recombinante, los genes del VHB se expresan y se producen las proteínas respectivas. Así, el MVA recombinante transmite propiedades antigénicas relevantes para el VHB (principio de inmunización activa).

La vacunación con el MVA-HBVac recombinante dará lugar a la inducción de anticuerpos específicos contra el antígeno del VHB y células T que pueden proteger contra una infección existente por el VHB o combatirla.

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 (especifíquese):	

b) Identidad del vector: pIIIH5redk1L-HBVac
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Escherichia coli
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> <p>Resistencia a los antibióticos <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Otras, (especifíquense): no</p> <p>Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Gen de resistencia a la ampicilina (AmpR). Sin embargo, la secuencia AmpR finalmente no está contenida en el fragmento de ADN que se inserta en el MVA receptor.</p>
e) Fragmentos constituyentes del vector: El plásmido vector pIIIH5redk1L-HBVac se utiliza como molde para la recombinación homóloga en el genoma del VAM. Contiene secuencias de ADN para los genes del VHB como se ha descrito anteriormente en el apartado C.2 y, además, la proteína marcadora fluorescente roja mCherry, secuencias de regulación transcripcional (promotores), la secuencia del gen HA-tag y secuencias de regiones genómicas MVA flanqueantes que dirigen la recombinación homóloga en el sitio de delección III del genoma MVA. Compárese Song F. et al.2013, para más detalles sobre la construcción de la vacuna homóloga MVA-HBVac.
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor <p>i) transformación <input type="checkbox"/></p> <p>ii) electroporación <input type="checkbox"/></p> <p>iii) macroinyección <input type="checkbox"/></p> <p>iv) microinyección <input type="checkbox"/></p> <p>v) infección <input type="checkbox"/></p> <p>vi) otros, (especifíquense) Recombinación homóloga entre MVA y pIIIH5redk1L-HBVac en CEF.</p>

5. **Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?**
No aplicable

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: El inserto contiene las secuencias del gen donante del VHB descritas anteriormente (véanse C.2. y C.4.(e)). El inserto también contiene la secuencia promotora PH5 del virus vaccinia para la regulación transcripcional de la expresión génica del inserto HBVac.
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: Los detalles figuran en el apartado C.2. Además, las secuencias codificantes de los transgenes HBs y HBc proceden de los genotipos A2 y C/D, respectivamente. La secuencia codificante de la polimerasa (pol) representa una secuencia consenso basada en un alineamiento de 500 secuencias del VHB que representan la distribución mundial de cepas del VHB. PH5 es un elemento de secuencia específico del virus vaccinia que activa la transcripción temprana del virus vaccinia (Wyatt et al. 1996).
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG: Función prevista como plantilla de expresión para cinco proteínas diferentes del VHB que funcionan como antígenos para inducir respuestas inmunitarias específicas (inducción de anticuerpos y células T específicos del antígeno del VHB). Justificación de los antígenos seleccionados para la vacuna: El control eficaz de la infección por el VHB observado tras la resolución de la infección aguda por el VHB se asocia a la inducción y persistencia de células T auxiliares y citotóxicas dirigidas a diferentes proteínas del VHB y a la producción de anticuerpos contra la envoltura del VHB (Bertoletti et al. 2013). La respuesta celular del sistema inmunitario específica frente al antígeno del núcleo del VHB (HBcAg) y, en menor medida, frente a otros antígenos del VHB, desempeña un papel fundamental en el control y la resolución del VHB. Se ha demostrado que la inducción de células T CD8+ dirigidas al antígeno HBc (HBcAg) y, aunque en menor medida, a los antígenos de superficie de la hepatitis B (HBs) y polimerasa de la hepatitis B (HBpol), se correlaciona con la eliminación de infecciones agudas y crónicas (Li et al. 2011; Liang et al, 2011, Boni et al. 2012, Block et al. 2017). Proteína de superficie de la hepatitis B (HBs): HBs es el principal antígeno de superficie y contiene los determinantes antigénicos clave (que definen el genotipo), así como algunos de los epítopos clave de células B conservados por genotipos cruzados responsables de la inducción de amplias respuestas neutralizantes (Bhatnagar et al, 1982; Ryu et al, 1997). La eliminación del HBsAg junto con la aparición de anticuerpos anti-HBs es un marcador de la resolución de la infección por hepatitis B. La eficacia de los anticuerpos contra el HBsAg (anti-HBs) en la prevención de la infección por VHB está ampliamente demostrada. Aunque la secuencia del HBs es variable según los genotipos, el HBs ya está incluido en la bien estudiada familia de vacunas profilácticas contra la hepatitis B comercializadas por GSK (Engerix B, Fendrix, Twinrix e Infanrix hexa), se ha demostrado que protege contra la hepatitis B, independientemente de los genotipos. Proteína del núcleo de la hepatitis B (HBc): La HBc desempeña un papel clave en la formación de nucleocápsides que empaquetan el genoma del VHB en el citoplasma de las células infectadas durante la replicación vírica. La secuencia de la HBc está muy conservada en todos los genotipos y subgenotipos del VHB.
d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor: - en un plásmido libre <input type="checkbox"/> - integrado en el cromosoma <input checked="" type="checkbox"/> - Otros especifíquense):
e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> En caso afirmativo, especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense) no aplicable	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): no aplicable
ii) Familia (plantas): Hepadnaviridae
iii) Género: Orthohepadnavirus
iv) Especie: virus de la hepatitis B humana (VHB)
v) Subespecie: no aplicable
vi) Cepa: no aplicable
vii) Cultivar/línea de reproducción: no aplicable
viii) Patovar: no aplicable
ix) Nombre vulgar: HBV

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input checked="" type="checkbox"/>

animales	<input type="checkbox"/>
plantas	<input type="checkbox"/>
otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?	
Sí <input 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 checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: El VHB ha sido clasificado como BSL3 (grupo de riesgo 3)	

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 type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		
d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

véase A.3. (c)

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 siguientes?	humanos	<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		
Todos los datos recopilados hasta el momento coinciden en demostrar que las vacunas basadas en MVA no pueden sobrevivir, diseminarse y/o transmitirse a otros organismos y no son patógenas para los animales o las plantas.		
No existen rasgos patológicos ni ecológicos del inserto, es decir, de las secuencias codificantes del antígeno del VHB (véase C.2). Todas las proteínas codificadas funcionan como antígenos del VHB contra los que se dirigen las respuestas inmunitarias (anticuerpos y/o células T). Los estudios no clínicos (en ratones y ratas) realizados con el OMG no han mostrado ningún efecto tóxico importante.		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: Los OMG (genoma MVA o productos génicos MVA, es decir, ARN) podrían detectarse específicamente mediante PCR o RT-PCR, pero esto no está previsto en el ensayo clínico previsto.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: La OMG se identifica mediante análisis PCR específicos y secuenciación del ADN genómico o del ADNc del ARN viral.

F. Información sobre la liberación

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

El propósito de la liberación es la vacunación en el ensayo clínico fase 1b/2a con código de protocolo TherVacB_1b2a_1 en aproximadamente 89 sujetos en todo el estudio, 69 sujetos en la UE y 20 en Tanzania con el objetivo de establecer la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de la vacuna candidata MVA- HBVac. El reclutamiento esperado en el estado español es entre 8 y 12 pacientes.

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: MVA no tiene hábitat natural. La liberación controlada se realizará en el marco del estudio TherVacB de fase 1b/2a en un centro de España. Además, el OMG y el organismo receptor (MVA) no se encuentran de forma natural en el medio ambiente.	

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): <ul style="list-style-type: none">Hospital Clinic Barcelona Calle Villarroel, 170. 08036. Barcelona 1.
b) Área del lugar (m ²): <ul style="list-style-type: none">i) lugar real de la liberación (m²): 10 m²ii) área de liberación más amplia (m²): 15 m²
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No aplica
d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: No aplica

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: Un máximo de 10 participantes recibirá la vacuna en territorio español. Esto representa un total de 3e9 unidades de formación infecciosa.
b. Duración de la operación: El esquema de vacunación sigue un esquema de primovacunación, y refuerzo, en el que el OMG sólo se aplica como refuerzo. Para las primeras vacunaciones se aplicarán antígenos proteínicos distintos del OMG. El refuerzo se aplicará en dos niveles de dosis diferentes, dependiendo del brazo del estudio. Si se incluyen los periodos de espera para el aumento de la dosis o la variación de los antígenos principales, la duración total de la liberación será de aproximadamente 24 meses.
c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: Se dispone de procedimientos para administrar la vacuna y se seguirán las medidas adecuadas para evitar la propagación del OMG al medio ambiente.

Todo el personal del hospital en cuestión recibirá la información apropiada del promotor antes del inicio del ensayo. El promotor del ensayo clínico proporcionará un procedimiento que detalla las precauciones para el confinamiento y la inactivación de los desechos.

Los productos se prepararán en condiciones asépticas: el personal que preparará las vacunas utilizará técnicas estériles (guantes, mascarillas y batas desechables). El personal que administrará el producto a los pacientes utilizará "precauciones universales" y eliminará el material contaminado inmediatamente después de la administración de acuerdo con la gestión de los residuos sanitarios del Grupo III. Después de la administración, todas las superficies se limpiarán con productos antisépticos adecuados antes y después del uso.

Todo el transporte del producto se realiza mediante un contenedor cerrado del servicio de farmacia al lugar de administración del producto. En caso de contaminación accidental, cada superficie contaminada debe tratarse de acuerdo con los procedimientos hospitalarios convencionales establecidos por el promotor del ensayo clínico para productos infectados.

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

No procede. La liberación se realiza en condiciones hospitalarias en el marco del ensayo clínico.

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

Todos los datos recopilados hasta el momento coinciden en demostrar que las vacunas basadas en MVA no pueden sobrevivir, diseminarse y/o desplazar a otros organismos y no son patógenas para los animales o las plantas (Ramírez et al. 2000). Se encontró que el MVA y sus derivados recombinantes son seguros en ratones normales, ratones recién nacidos e irradiados, ratones SCID y macacos inmunosuprimidos (Meyer et al., 1991; Ramírez et al., 2000; Hanke et al., 2002; Hanke et al., 2005)

El vector MVA ya se ha utilizado en varios ensayos clínicos en diferentes países:

B/DE/11/PEI 1332: Ensayo clínico de fase I utilizando MVA recombinante que codifica las proteínas no estructurales NS3, NS4 y NS5B del virus de la hepatitis C. B/DE/17/PEI3056-01: Ensayo clínico de fase I utilizando una construcción recombinante homóloga de MVA que codifica la glicoproteína en espiga del coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03615911, Koch T et al. 2020). B/DE/20/PEI4227: El receptor idéntico MVA (aislado clonal F6 sfMR) fue liberado/probado como organismo parental y como virus modificado genéticamente para expresar la proteína Spike del SARS-CoV-2 que ha sido liberado/probado en un ensayo clínico de fase I en el hospital universitario Hamburg-Eppendorf (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04569383). B/DE/21/PEI4241: Virus vaccinia recombinante modificado Ankara (MVA) que porta el gen de la glicoproteína S del coronavirus (CoV) del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS), fabricado en la línea celular de fibroblastos de pollo espontáneamente inmortalizados DF-1: MVA-MERS-S_DF-1 (Song et al., 2013). El OMG ha sido liberado/probado en un ensayo clínico de fase I en el hospital universitario Hamburg-Eppendorf (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03615911).

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):	Hominidae
iii) Género:	Homo
iv) Especie:	Sapiens
v) Subespecies:	Sapiens
vi) Cepa:	no aplicable
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	no aplicable
viii) Patovar:	no aplicable
ix) Nombre vulgar:	Humano

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

Expresión transitoria del transgén en fibroblastos y células musculares y fagocitos/células dendríticas para provocar respuestas inmunitarias innatas y adaptativas. Ausencia de replicación o propagación del virus debido a la profunda deficiencia de replicación de los MVA recombinantes.

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

El OMG se administrará en entorno hospitalario y, por lo tanto, es poco probable que el OMG entre en contacto con otras especies animales.

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:		

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

No se prevé que el OMG interactúe con organismos no objetivo debido a su tropismo de huésped muy restringido. Dado el entorno del lugar, el único modo de diseminación concebible sería entre el personal médico y/u otros participantes en el estudio. Debido a la deficiencia de replicación, una mayor propagación sería altamente improbable.

Debido a las medidas de gestión de riesgos que se prevén en este estudio, no es probable que el OMG se pueda liberar al ecosistema ni se pueda diseminar desde el lugar de la liberación.

En el caso improbable de administración involuntaria a organismos distintos al objetivo, la diseminación posterior sería improbable debido a la incapacidad del OMG para replicarse.

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): no aplicable
ii) Familia (plantas): no aplicable
iii) Género: no aplicable
iv) Especie: no aplicable
v) Subespecie: no aplicable
vi) Cepa: no aplicable
vii) Cultivar/línea de reproducción: no aplicable
viii) Patovar: no aplicable
ix) Nombre vulgar: no aplicable

7. **Probabilidad de intercambio genético en vivo**

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Insignificante: La transferencia de genes por recombinación con ortopoxvirus ambientales (virus de la viruela bovina) es insignificante (probabilidad igual o inferior a 10^{-13} , basada en la frecuencia de notificación de viruela bovina para la población humana y la función de barrera tisular del músculo esquelético al que se administrará MVA-HBVac).
b) De otros organismos al OMG: Insignificante: La transferencia de genes por recombinación con ortopoxvirus ambientales (virus de la viruela bovina) es insignificante (probabilidad igual o inferior a 10^{-13} , basada en la frecuencia de notificación de viruela bovina para la población humana y la función de barrera tisular del músculo esquelético al que se administrará MVA-HBVac).
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: No se dispone de datos.

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

No se conoce - no hay datos disponibles sobre el comportamiento y las características del MVA-HBVac en los entornos mencionados.

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

No aplicable

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El OMG está confinado en la farmacia del hospital en frascos sellados. El producto solo se extrae en el momento de la inyección.

La eliminación del material contaminado se tratará inmediatamente después de la administración de acuerdo con la gestión de los residuos sanitarios del Grupo III.

En ausencia de un accidente específico (la rotura de un vial), no se prevé ninguna dispersión en el medio ambiente durante el procedimiento.

Basado en la característica del OMG de no propagarse, en la presente propuesta no está prevista ninguna detección viral específica relativa al MVA-HBVac. La vacuna se puede monitorear mediante PCR aunque no está previsto que se realice en el presente ensayo.

El seguimiento de los efectos directos e indirectos del OMG en los pacientes se logrará mediante las siguientes evaluaciones clínicas: exámenes físicos, notificación de acontecimientos adversos, evaluaciones de laboratorio clínico a lo largo del estudio clínico para todos los participantes.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Ninguna prevista, ya que el OMG y el virus MVA parental no se encuentran de forma natural en el medio ambiente. La vacuna viral modificada genéticamente no puede sobrevivir, diseminarse y/o transmitirse a otros organismos y no es patógena para animales o plantas.

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

La probabilidad de transferencia del material genético donado a otros organismos (seres humanos) es improbable, ya que el OMG no tiene localización nuclear y no se conoce ningún virus endémico humano capaz de complementarse, recombinarse o intercambiar material genético con el genoma del MVA.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede: el OMG se administrará a los pacientes mediante inyecciones intramusculares en salas convencionales de hospitales o clínicas.

5. Duración del seguimiento

Se realizarán evaluaciones de seguridad a lo largo de la participación de los pacientes en el ensayo clínico.

6. Frecuencia del seguimiento

Las visitas de control, en las que se evaluará la seguridad, se realizarán en cada inyección de OMG y durante el periodo de seguimiento.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Higiene general del hospital. Una vez finalizadas las actividades que incluyan el OMG, se desinfectarán sistemáticamente todas las zonas/superficies potencialmente contaminadas próximas a la zona en la que se manipuló el OMG (por ejemplo, sillas, lavabos y mesas). Los laboratorios y centros utilizarán desinfectantes apropiados contra los virus envueltos (hipoclorito sódico al 1% y otra solución desinfectante tipo Surfánios® o equivalente)

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los materiales utilizados durante la vacunación se depositarán en recipientes amarillos herméticamente sellados con una etiqueta con los residuos médicos etiquetados – Grupo III.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Cantidad limitada de residuos que contengan o puedan contener OMG, es decir, jeringuilla con aguja, vial de vacuna, guantes, sábanas de cirugía, tiritas.

3. (b) Tratamiento de residuos

Los residuos se depositarán en un contenedor de bioseguridad y se tratarán según residuos sanitarios específicos del grupo III.

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 autoadministración del OMG, todos los centros actuarán principalmente de acuerdo con sus procedimientos de seguridad locales y seguirán las normas de notificación requeridas. En caso de derrame de un vial intacto pero abierto o de un vial dañado, accidente por pinchazo de aguja, fuga del lugar de inyección o exposición a residuos contaminados, se procederá a la desinfección con un viricida tipo Surfianos® o equivalente.

Se aplicará un apósito de gasa adhesivo en el lugar de la inyección durante 30 minutos.

Todos los materiales (material absorbente, ampollas vacías o rotas, jeringas, gasas...) utilizados durante los procedimientos de limpieza se descontaminarán o destruirán de acuerdo con los residuos sanitarios específicos del Grupo III.

Una vez finalizadas todas las manipulaciones con el OMG, las superficies se desinfectarán y limpiarán con un viricida de la lista aprobada oficialmente y los residuos se eliminarán en autoclave. En caso de derrame se realizará lo siguiente:

- a. ropa - desinfección con un viricida antes de lavarla,
- b. una superficie - desinfección con un viricida tipo Surfianos® o equivalente

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

El OMG es susceptible a los desinfectantes más comunes. Las zonas/superficies potencialmente contaminadas se desinfectarán utilizando desinfectantes adecuados contra los virus con envoltura, como por ejemplo tipo Surfianos® o equivalente, y la zona contaminada permanecerá aislada al menos durante 10 minutos.

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

Esto no es aplicable ya que la liberación se producirá en entorno hospitalario en el marco de un ensayo clínico. Por lo tanto, no se prevé ningún contacto con plantas o animales con el OMG.

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

El MVA y el MVA-HBVac recombinante no son patógenos y tienen una fuerte restricción en cuanto a su replicación.

Los participantes en el ensayo clínico previsto serán monitorizados según lo estipulado en el protocolo del ensayo clínico de acuerdo con los estándares de buena práctica clínica. Los acontecimientos adversos se registrarán y notificarán según se detalla en el protocolo del ensayo.

Debido a los exhaustivos controles de procedimiento establecidos para el transporte, almacenamiento, administración, eliminación y seguimiento de la aplicación del OMG, el riesgo de una liberación accidental se considera muy bajo. Si, después de la liberación propuesta, el virus se propaga a otros seres humanos o especies animales, las infecciones serán autolimitantes y, por lo tanto, no tendrán un impacto medioambiental. Por lo tanto, no cabe esperar efectos indeseables.

Bibliografía:

Bertoletti A, Gehring AJ (2013) Immune Therapeutic Strategies in Chronic Hepatitis B Virus Infection: Virus or Inflammation Control? *PLoS Pathog* 9(12).

Bhatnagar PK, Papas E, Blum HE, Milich DR, Nitecki D, Karels MJ, Vyas GN. Immune response to synthetic peptide analogues of hepatitis B surface antigen specific for the a determinant. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982 Jul;79(14):4400-4.

Block T, Alter H, Brown N, Brownstein A, Brosgart C, Chang K-M, Chen P-J, Cohen C, et al, (2017). Research priorities for the discovery of a cure for chronic hepatitis B: Report of a workshop. *Antiviral Research*; 150:93-100.

Boni C, Laccabue D, Lampertico P, Giuberti T, Viganò M, Schivazappa S, Alfieri A, Pesci M, Gaeta GB, Brancaccio G, Colombo M, Missale G, Ferrari C. Restored function of HBV-specific T cells after long-term effective therapy with nucleos(t)ide analogues. *Gastroenterology*. 2012 Oct;143(4):963-73.

Goossens, M., K. Pauwels, N. Willemarck and D. Breyer (2013). "Environmental risk assessment of clinical trials involving modified vaccinia virus Ankara (MVA)-based vectors." *Curr Gene Ther* 13(6): 413-420.

Hanke T., McMichael A.J., Mwau M., Wee E.G., Ceberej I., Patel S., Sutton J., Tomlinson M., Samuel R.V. Development of a DNA-MVA/HIVA vaccine for Kenya Vaccine, 20 (15) (2002), pp. 1995-1998

Hanke, T., McMichael, A. J., Dennis, M. J., Sharpe, S. A., Powell, L. A. J., McLoughlin, L., & Crome, S. J. (2005). Biodistribution and persistence of an MVA-vectored candidate HIV vaccine in SIV-infected rhesus macaques and SCID mice. *Vaccine*, 23(12), 1507-1514.

Koch T, Dahlke C, Fathi A, Kupke A, Krähling V, Okba NMA, Halwe S, Rohde C, Eickmann M, Volz A, Hesterkamp T, Jambrecina A, Borregaard S, Ly ML, Zinser ME, Bartels E, Poetsch JSH, Neumann R, Fux R, Schmiedel S, Lohse AW, Haagmans BL, Sutter G, Becker S, Addo MM. Safety and immunogenicity of a modified vaccinia virus Ankara vector vaccine candidate for Middle East respiratory syndrome: an open-label, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis*. 2020 Jul;20(7):827-838. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30248-6. Epub 2020 Apr 21. PMID: 32325037; PMCID: PMC7172913.

Li J, Wang K, Yang Y, (2011) Dynamical behaviors of an HBV infection model with logistic hepatocyte growth, *Mathematical and Computer Modelling* 54(1–2): 704-711.

Liang Y, Jiang J, Su M, Liu Z, Guo W, Huang X, Xie R, Ge S, Hu J, Jiang Z, Zhu M, Wong VW, Chan HL. Predictors of relapse in chronic hepatitis B after discontinuation of anti-viral therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2011 Aug;34(3):344-52.

Meyer H, Sutter G, Mayr A. Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence. *J Gen Virol*. 1991 May;72 (Pt 5):1031-8.

Position statement of the ZKBS on Vaccinia virus MVA (2018). Access via: https://www.zkbs-online.de/ZKBS/SharedDocs/Downloads/02_Allgemeine_Stellungnahmen_englisch/viruses/Vaccinia_virus_MVA_2018.html

Ramirez J.C., Gherardi M.M., Rodriguez D., Esteban M. Attenuated modified vaccinia virus Ankara can be used as an immunizing agent under conditions of preexisting immunity to the vector. *Journal of Virology*. 2000;74(16):7651–7655.

Ryu C J, Gripon P, Park H R, Park S S, Kim Y K, Guguen-Guillouzo C, Yoo O J, Hong H J In vitro neutralization of hepatitis B virus by monoclonal antibodies against the viral surface antigen. *Journal of Medical Virology* 1997 June; 52(2):226-233.

Song F, Fux R, Provacia LB, Volz A, Eickmann M, Becker S, Osterhaus AD, Haagmans BL, Sutter G. Middle East respiratory syndrome coronavirus spike protein delivered by modified vaccinia virus Ankara efficiently induces virus-neutralizing antibodies. *J Virol*. 2013 Nov;87(21):11950-4.

Stittelaar KJ, Kuiken T, de Swart RL, van Amerongen G, Vos HW, Niesters HG, van Schalkwijk P, van der Kwast T, Wyatt LS, Moss B, Osterhaus AD. Safety of modified vaccinia virus Ankara (MVA) in immune-suppressed macaques. *Vaccine*. 2001 Jun 14;19(27):3700-9.

Meyer H, Sutter G, Mayr A. Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence. *J Gen Virol*. 1991 May;72 (Pt 5):1031-8.

Wyatt L.S., Shors S.T., Murphy B.R., Moss B. Development of a replication-deficient recombinant vaccinia virus vaccine effective against parainfluenza virus 3 infection in an animal model, *Vaccine*, 14 (15, 1996, 1451–1458.