



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CITOMEGALOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/17/19)

Título del ensayo

Estudio de Fase IIb, doble ciego, aleatorizado, controlado por placebo, multicéntrico, para evaluar la seguridad, tolerabilidad, eficacia e inmunogenicidad de dos regímenes de dosificación, de dos o tres dosis de V160 (vacuna de Citomegalovirus [CMV]), en mujeres sanas seronegativas, de 16 a 35 años de edad”, de la empresa Merck Sharp&Dohme de España S.A.

Características del ensayo

El ensayo se llevará a cabo en los siguientes hospitales:

- Hospital de Santiago de Compostela, Servicio de Pediatría.
- Hospital 12 de octubre, Servicio de Pediatría-Enfermedades Infecciosas Pediátricas.
- Hospital Clinic, Servicio de medicina preventiva y epidemiología.
- Hospital La Paz, UCICEC (Unidad Central de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos) de IdiPaz.

El V160 se administra por vía intramuscular en el músculo deltoides.

Se reclutarán un total de 2.100 sujetos en el conjunto de los países participantes, que son: Finlandia, España, Israel, Rusia, EEUU y Canadá. En España se incluirán 127 sujetos.

El número total de vacunas administradas será de 215 en 6 meses. Cuarenta y tres participantes recibirán 2 dosis y otros 43 recibirán 3 dosis. El intervalo de dosificación propuesto en el ensayo tiene el objetivo de producir una respuesta inmune temprana y específica al CMV (con 2 dosis primarias dadas en 2 meses), y establecer una inmunogenicidad duradera mediante la administración de una dosis tardía (6 meses).

La eficacia de la vacuna de V160 será evaluada mediante la monitorización de infección por CMV en los participantes del estudio. Esto se llevará a cabo mediante la evaluación las muestras de saliva y orina recogidas por los propios participantes del estudio y las mujeres embarazadas y/o infantes participantes en el estudio.

Los participantes serán entrenados en los procedimientos de obtención de muestras de orina y saliva, usando unos kits que se suministrarán para la recolección de las muestras por ellos mismos. El sujeto recibirá unas instrucciones escritas sobre estos procedimientos. Las primeras muestras se recogerán en el centro. El resto de las muestras la recogerán mensualmente los participantes en casa, desde el mes 1 y hasta aproximadamente el mes 36.

En caso de embarazo las pacientes serán seguidas hasta el final del embarazo.

Tras el nacimiento del niño se tomarán muestras de orina y saliva para determinar el estado del CMV.

Los niños diagnosticados con infección congénita de CMV continuarán en seguimiento hasta los 3 años. Estos seguimientos se harán anualmente.



Características del OMG

El producto, V160, es una vacuna que se está desarrollando para prevenir la infección congénita por el citomegalovirus humano (CMVH) y, por extensión, de la enfermedad congénita por el CMVH, en lactantes nacidos de mujeres infectadas.

Modificación genética

Para la obtención de V160 se utilizó la cepa de citomegalovirus MAD169 obtenida tras 5 pases adicionales en fibroblastos humanos WI-38 de la cepa AD169 para su atenuación. AD169 es un virus vivo, con envuelta y de cadena doble de ADN, derivado del virus CMVH aislado de la torunda de la garganta de una niña de 7 años. La cepa AD169 presenta una deleción de 15-kb en la región UL/b' que contiene 19 marcos de lectura abierta y se cree que está relacionado con la atenuación. Además, se han encontrado mutaciones en los locus RL5A, RL13, UL36, UL131. La mutación en UL131 se sabe que es responsable de la incapacidad de AD169 para infectar las células epiteliales y endoteliales. Esta mutación da lugar a una expresión defectuosa del complejo pentamérico gH (gH/gL/pUL128-131). Se ha demostrado que el complejo pentamérico gH es importante para generar anticuerpos neutralizantes potentes.

AD169 se ha evaluado en dos ensayos clínicos en voluntarios sanos, siendo una vacuna segura, bien tolerada e inmunogénica. No se detectó diseminación vírica en ningún estudio con humanos.

El genoma vírico completo de la cepa atenuada MAD169 se utilizó para construir un cromosoma bacteriano artificial infeccioso (BAC) para lo cual se clonó con un fragmento de ADN que contenía un elemento BAC junto con marcadores de selección y cribado; este fragmento insertado entre los ORF US28 y US29 en el genoma vírico permitió posteriormente preservar y propagar el genoma vírico completo en una única copia en *E. coli*. También posibilitó la manipulación genética del genoma vírico en *E. coli*.

V160 presenta dos nuevas características respecto a MAD169:

1) Restablecimiento de la expresión del complejo glucoproteico pentamérico gH/gL/pUL128-131. Esta reparación genética permite que V160 induzca anticuerpos neutralizantes más potentes que MAD169.

2) En dos puntos del genoma de MAD169 se insertaron dos secuencias modificadas de ddFKBP (dominio de desestabilización de la proteína de unión a FK506) basadas en una secuencia FKBP humana. ddFKBP se fusionó a los extremos amino de las proteínas tempranas-inmediatas IE1/2 del virus y una subunidad terminasa pUL51, lo que hace que el virus muestre una replicación defectuosa condicionada. Por diseño, la secuencia ddFKBP modificada es inestable tras su expresión y se degrada rápidamente a menos que sea rescatada por una pequeña molécula denominada Shield-1. La replicación de V160 depende, por tanto, de la presencia de esta molécula sintética que debe añadirse al medio de cultivo durante la producción. Durante la purificación de la vacuna, la concentración de Shield-1 se reduce por debajo del nivel necesario para favorecer una replicación productiva del virus.

El uso de células epiteliales durante la fabricación de la vacuna genera una presión selectiva para que el V160 mantenga la secuencia reparada del UL131, así como las otras cuatro proteínas que forman parte del complejo pentamérico.



Identificación de riesgos potenciales

Riesgo de transferencia genética

La transferencia horizontal de genes es improbable debido a las características de la secuencia del OMG (V160), en la que no hay posibilidad de conferir una ventaja selectiva a las bacterias u otros microorganismos.

Patogenicidad

El V160 es un virus vacunal avirulento, deficiente en la replicación, dependiente de la presencia de una molécula sintética (Shield-1) que no se encuentra en la naturaleza.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

El V160 se ha analizado en un estudio clínico en fase I, para evaluar la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de varias dosis, formulaciones y rutas de administración en sujetos sanos, mayores de 18 años. No se detectó diseminación vírica en muestras de saliva y orina.

Para evaluar su tiempo de supervivencia, virus vivos de AD169 se diluyeron con saliva y solución salina fosfatada (10^5 partículas infecciosas/mL), y se aplicaron sobre manos de los humanos. Se recuperaron virus vivos de AD169 en 18 de 20 manos 1 minuto después de su aplicación, pero sólo en 4 de las 20 manos transcurridos 15 minutos. Para evaluar su transferencia/supervivencia, los virus AD169 se aplicaron sobre manos de humanos que luego tocaron plástico, metal, cristal, madera, látex, paños de algodón, galletas y otras manos. Se recuperaron virus viables de AD169 transcurridos 15 minutos tras su aplicación en plástico, 5 minutos en galleta y cristal, y 1 minuto en metal y paño. No se recuperaron virus viables en ningún momento ni en madera, ni en látex, ni en otras manos.

Para evaluar la efectividad de un limpiador de manos sobre el HCMV, se aplicaron virus AD169 sobre la superficie de las manos antes de lavarlas con agua, jabón antibacteriano o desinfectante de manos (65% en alcohol etílico). No se detectaron virus viables de las manos después de ninguno de los tratamientos.

Efecto sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente

Los citomegalovirus son virus antiguos, cada uno de los cuales ha evolucionado conjuntamente con su respectiva especie hospedadora durante millones de años. Cada especie animal tiene su propio citomegalovirus y la barrera interespecífica impide que el CMV infecte de manera productiva a otras especies animales.

El V160 es similar al CMVH silvestre, manteniendo los antígenos víricos importantes para una inmunidad natural.



Manipulación, control y tratamiento de residuos

La recepción, almacenamiento y preparación de la vacuna se realiza en el servicio de farmacia o áreas de acceso restringido y controlado.

La administración de la vacuna a los pacientes también se realizará en una zona de acceso restringido.

El traslado de la vacuna desde el servicio de farmacia hasta el lugar de administración se realizará en una caja cerrada herméticamente etiquetada como; “contiene OMG”.

El personal del estudio será adecuadamente entrenado por el promotor para el manejo de la vacuna en nivel de bioseguridad 1 y para evitar su diseminación indebida. El entrenamiento será realizado por personal cualificado del promotor, antes del comienzo del estudio, y previsiblemente durante la visita de inicio.

El promotor suministrará a los centros que participen en el ensayo clínico documentación apropiada para el manejo del medicamento en estudio, así como su destrucción.

Para su preparación, el vial que contiene el V160, que es un polvo liofilizado, se reconstituirá en el diluyente. La administración debería realizarse inmediatamente después de la preparación de la dosis, y hasta un máximo de 60 minutos. Si no se administra transcurrido este tiempo, la dosis eliminarse en el contenedor de residuos biopeligrosos. El promotor formará al equipo investigador para que la eliminación de la vacuna se realice adecuadamente.

Los virus envueltos como el HCMV, y por tanto V160, son inactivados mediante desnaturalización de la proteína de la cápside a 56°C durante 30 minutos. También son fácilmente inactivados mediante desinfectantes de alcohol, como etanol al 70%, solución de isopropanol, y solventes lípidos como cloroformo o fluorocarbono. Además, los surfactantes de tipo catión/anfotérico, los desinfectantes de tipo aldehído y de tipo halógeno, y el hipoclorito sódico también son efectivos en la inactivación de virus envueltos.

A su vez, la transmisión se previene mediante medidas de higiene común, incluyendo evitar compartir bebidas o comida, y el lavado regular de las manos (especialmente después del contacto con fluidos biológicos). Estas medidas se recogen en un documento de instrucciones que se suministrará al paciente. El equipo investigador será informado por el promotor de los procedimientos a seguir tras la liberación de la vacuna, antes del comienzo del estudio, y previsiblemente durante la visita de inicio.

Las jeringas y los viales de la vacuna serán desechados de acuerdo a procedimientos locales de manejo de material biológico. Estos procedimientos consisten en la eliminación de los residuos en el contenedor de residuos biopeligrosos, cuyo contenido se inactiva por autoclave.

Además, cualquier material usado durante la administración o recolección de fluidos corporales serán desechados de acuerdo a los procedimientos de bioseguridad habituales de los centros, también en los contenedores de residuos biopeligrosos, que son inactivados por autoclave.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad.



CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 5 de marzo de 2018