



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS VACCINIA Y ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/20)

Título del ensayo clínico

Estudio de seguridad y respuesta inmunológica a la combinación de las vacunas DNA.HTI, MVA.HTI y ChAdOx1.HTI para el VIH-1 en pacientes VIH-1 positivos tratados de forma precoz (AELIX-002), de la empresa AELIX Therapeutics SL.

Organismo modificado genéticamente MVA.HTI

El OMG MVA.HTI ya ha sido utilizado en el ensayo clínico “Estudio de seguridad y respuesta inmunológica a la combinación de las vacunas DNA.HTI y MVA.HTI para el VIH-1 en pacientes VIH-1 positivos tratados de forma precoz” (AELIX-002). El ensayo clínico fue autorizado con número de notificación B/ES/16/11.

El OMG, MVA.HTI, se obtiene a partir del virus *Vaccinia* vivo recombinante (MVA vector de la viruela vacunoide de Ankara modificado) que es un virus atenuado por pases seriados en cultivos de fibroblastos de embrión de pollo (o CEF, *chick embryo fibroblasts*) y que contiene seis deleciones genómicas grandes respecto al virus parental, incluidos los genes que codifican receptores de citoquinas. El virus es incapaz de replicarse eficientemente en células humanas y de mamíferos.

En el virus se inserta una secuencia sintética (HTI) que contiene segmentos del genoma del lentivirus VIH-1. El diseño de la HTI se basó en la identificación de dianas para las células T provenientes de 232 individuos infectados por el VIH del subtipo B, no tratados. HTI es una secuencia constituida por 16 fragmentos del genoma del VIH-1 cada uno entre 11 y 78 aminoácidos de longitud y que codifican para dianas críticas de las proteínas víricas Gag, Pol, Vif y Nef. El fragmento HTI contiene, además, residuos de alanina entre los segmentos que se incluyeron con el fin de inducir la escisión proteolítica preferentemente entre los segmentos, y evitar así la digestión prematura del epítipo, un péptido señal en el extremo N-terminal, para mejorar la translocación al retículo endoplásmico, y una secuencia polipeptídica en el extremo C-terminal que permite la detección mediante anticuerpos comerciales.

La secuencia HTI se inserta en el locus de la timidina quinasa del MVA mediante recombinación homóloga.

La función de HTI es la inducción de una respuesta inmunitaria de células T VIH-1 específicas, dirigidas contra las regiones incluidas en HTI, que pueden ayudar a controlar la infección por VIH-1 de forma eficaz.

Organismo modificado genéticamente ChAdOx1.HTI

ChAdOx1.HTI es un adenovirus de chimpancé del serotipo Y25 modificado genéticamente al que se le delecionaron las regiones E1 (esencial para la replicación viral), la región E4 (se reemplazó por el ORF de la región E4 de HAdV-5, mejora la propagación en células humanas HEK293) y se insertó la misma secuencia HTI que en MVA.HTI.



Características del ensayo clínico

En el ensayo participarán el hospital Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

El ensayo propuesto, tiene por finalidad testar la seguridad e inmunogenicidad, y la capacidad del OMG (MVA.HTI) y ChAdOx1.HTI administrado en secuencia con un plásmido que contiene el mismo transgén (DNA.HTI) para reducir el reservorio viral.

En las primeras dos partes del estudio AELIX-002 (denominado A y B, autorizado con número de notificación B/ES/16/11) la pauta de vacunación consistía en una dosis de 4 mg de DNA-HTI durante las semanas 0, 4 y 8, seguida de la administración de 2×10^8 pfu MVA.HTI las semanas 12 y 20. La administración se realizó por vía intramuscular. En la tercera parte del estudio, con los mismos pacientes de la parte A y B, (denominada C y a la que corresponde este ensayo B/ES/18/20) la pauta de vacunación consistirá en una dosis de 5.0×10^{10} Vp de ChAdOx1.HTI en las semanas 0 y 12 y una dosis de 2×10^8 pfu de MVA.HTI en la semana 24.

El lugar de inoculación de la vacuna de los pacientes se cubrirá apropiadamente tras la administración.

Se realizará monitorización de efectos secundarios del tratamiento en ensayo mediante exploración física, analíticas de sangre y comunicación de eventos adversos. En la Fase C del estudio todos los pacientes serán seguidos 68 semanas después de la vacunación inicial durante esta fase. Es decir, que después de la última vacuna administrada durante esta fase todos los pacientes serán seguidos 44 semanas.

Identificación de riesgos potenciales asociados a ChAdOx1.HTI

Estabilidad

Se sabe que los adenovirus pueden volverse genéticamente inestables durante sucesivos pases celulares, por lo que el vector puede rechazar (descartar) la secuencia insertada. El tamaño total del genoma es un factor conocido de inestabilidad (el tamaño del genoma de ChAdOx1.HTI es inferior al 104% del virus original, el adenovirus de chimpancé Y25). El fabricante, ha llevado a cabo un estudio de estabilidad genética para confirmar la estabilidad de ChAdOx1.HTI. La estabilidad genética se verifica en distintos pasos del proceso de producción, mediante análisis de integridad del vector y del inserto, pureza, potencia biológica y seguridad (análisis de ausencia de virus parental).

Patogenicidad

Los adenovirus de chimpancé han sido utilizados en ensayos clínicos como una alternativa ventajosa con respecto a los adenovirus humanos debido a su gran capacidad para generar respuesta inmune, la posibilidad de insertar secuencias más largas y la falta de inmunidad contra el vector debido a la no exposición previa.

ChAdOx1.HTI no es capaz de sobrevivir, establecerse, diseminarse ni de desplazar a otros organismos, y no es patógeno para animales ni plantas. Al tratarse de virus atenuados para la replicación, no se prevé ninguna interacción con otros organismos del medio ambiente.



Genotoxicidad

Una vez administrado, los adenovirus se dirigen y localizan en el núcleo de la célula huésped, sin embargo, no integran su ADN en el genoma de ésta. La integración del ADN de adenovirus en el genoma es un evento extremadamente raro que solo se ha observado en algunos cultivos de líneas celulares primarias humanas. Según las guías de la EMA, los vectores adenovirales se consideran vectores no integrativos (EMEA/273974/2005, 2006).

Generación de virus recombinantes

La posibilidad de recombinación con otros virus no puede ser excluida ya que ChAdOx1.HTI podría, teóricamente, intercambiar su material genético con un adenovirus silvestre si la misma célula fuese coinfectada por ambos. En este caso, ChAdOx1.HTI podría readquirir su capacidad de replicación. La probabilidad de que ocurra esto es extremadamente baja debido a que ChAdOx1.HTI es incapaz de replicarse, por lo que la infección involucraría a un número muy limitado de partículas virales, que además serían rápidamente eliminadas por el sistema inmune. Por todo esto, en el hipotético caso de que una posible transmisión horizontal ocurra, no tendrían ningún efecto sobre la salud de las personas en contacto con el sujeto vacunado. Además, individuos que han estado expuestos naturalmente a adenovirus de tipo silvestre desarrollan anticuerpos neutralizantes que constituyen una barrera adicional que protege contra la posible transmisión horizontal de vectores adenovirales.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

ChAdOx1.HTI se encuentran exclusivamente en el citoplasma de la célula y es incapaz de producir partículas de vector en células humanas fuera del lugar de inoculación.

No hay razones para suponer que el empleo del transgén HTI como inserto en el vector viral ChAdOx1 modifique las características de distribución, “shedding” o capacidad replicativa con respecto a otros insertos utilizados en vectores virales similares como ChAd155 y ChAd63.

Interacción con MVA.HTI

Al ser ChAdOx1.HTI inoculado a sujetos que también serán inoculados con MVA.HTI posteriormente a ChAdOx1.HTI, cabe la posibilidad que el gen codificado HTI se transfiera del genoma de uno a otro por recombinación homóloga, sea delecionado de uno de ellos o duplicado en el otro. La consecuencia de este improbable suceso sería inocuo, ya que primero, ninguno de los dos virus (MVA.HTI y ChAdOx1) tiene capacidad de replicación y segundo, los fragmentos o secuencias incluidos en el inmunógeno HTI no están relacionados con la patogenicidad.

Ambos OMG no deberán interactuar debido a la pauta entre administraciones que es de 8 semanas o más. Normalmente, los adenovirus se eliminan del lugar de administración después de cada inyección intramuscular en 28 días, mientras que MVA se elimina en aproximadamente 14 días. Aunque podrían quedar cantidades limitadas de virus en el lugar de administración tras los 28 días, serían cantidades muy bajas por lo que habría muy poco riesgo de recombinación. En el remoto caso de haber recombinación, sería un intercambio de secuencias por recombinación homóloga determinada por la secuencia de HTI, que es la única secuencia en común ente los OMG. Incluso si ocurriera, es probable que el genoma de ADN resultante sea demasiado grande para el empaquetamiento, creando partículas inviables. Ambos vectores también tienen una replicación defectuosa en el tejido humano (el MVA no es



por sí mismo defectuoso, pero no es capaz de replicarse en células humanas, solo células aviares en principio) mientras que ChAdOx1 es naturalmente defectuoso y no puede replicarse, incluso si se recombina con MVA. Por lo tanto, cualquier secuencia genética adquirida no se transmitirá a vectores descendentes. En general, en base a los títulos bajos que se esperan en el momento de la administración, la baja homología y la baja viabilidad, no se esperan interacciones capaces de dar lugar a nuevos OMG.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El producto en uso será dispensado por el servicio de farmacia en contenedores cerrados. La descongelación y preparación de la suspensión se realizarán en condiciones asépticas en una sala de preparación de medicación de característica BL-1, ubicada en la Unitat Polivalent de Investigació Clínica (UPIC) ubicada en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. La UPIC es la unidad de investigación para fases I que cumple con los criterios para un laboratorio BSL-1.

Todas las superficies se limpiarán con jabón desinfectante Safe Seft® y alcohol de 70° antes y después del proceso en cumplimiento adecuado a la preparación de inyectables. La suspensión de virus se transferirá a una jeringa de 1 ml de insulina en condiciones asépticas mediante un dispositivo de transferencia de sistema cerrado validado (CSTD) para su administración

La administración del producto se realizará en las consultas de la Unitat Polivalent de Investigació Clínica (UPIC) ubicada en el Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. El lugar de inoculación de la vacuna de los pacientes (zona deltoidea) que se cubrirá apropiadamente tras la administración.

Por lo que respecta al transporte del OMG desde el servicio de farmacia a la sala de preparación de medicación de la UPIC se realizará en contenedores cerrados refrigerados.

Todo el material utilizado durante la preparación y administración del producto se considera residuo sanitario Grupo III y se gestionará como tal. Concretamente, las tallas, guantes, mascarillas, batas, jeringas, junto con las agujas y los sistemas CSTD, se desecharán como residuos sanitarios del grupo III.

Los viales de producto no utilizados o dañados serán devueltos al promotor a través de una empresa de mensajería especializada. En aquellos casos en los que no sea posible su devolución se eliminarán como residuos sanitarios del Grupo III.

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 21 de noviembre de 2018