



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/11)

### **Título del ensayo**

Estudio en fase 1/2a, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, para evaluar la seguridad y la inmunogenicidad de varias formulaciones de vacunas basadas en RSV.preF en adultos de 60 años en adelante, del promotor Janssen Vaccines & Prevention B.V.

### **Organismo modificado genéticamente**

La vacuna contra el virus respiratorio sincitial (RSV) está compuesta por 4 principios activos farmacéuticos, incluidos los 2 OMG (Ad26.RSV.preF y Ad26.RSV-B.preF2), la proteína preF del RSV-A y la proteína preF del RSV-B.

Los OMG, Ad26.RSV.preF y Ad26.RSV-B.preF2, están basados en un vector vírico derivado del adenovirus 26 (Ad26), no replicativo, que contiene un transgén que codifica para la proteína F estabilizada en la conformación prefusión del VRS, del RSV-A y del RSV-B, respectivamente.

El OMG Ad26.RSV.preF es el mismo al utilizado en los ensayos B/ES/18/27 y B/ES/21/18, autorizados por el CIOMG el 24 de mayo de 2019 y el 11 de agosto de 2021, respectivamente.

La proteína F del VRS es una proteína que media la fusión de membranas entre la membrana viral y la membrana celular o, cuando se expresa por medio de células huésped, también entre las membranas celulares cercanas. La proteína F del VRS se seleccionó como antígeno porque está altamente conservada, y porque forma un importante objetivo de anticuerpos neutralizantes.

La proteína F del VRS experimenta una transición de la conformación, desde una conformación de prefusión metaestable hasta una conformación de posfusión estable. Ambas proteínas son potentes a la hora de inducir anticuerpos neutralizantes, pero las pruebas recientes indican que las específicas de la conformación de prefusión parecen ser más potentes que las identificadas previamente y las presentes en la conformación de posfusión. Las proteínas F de los subtipos A y B del VRS humano están muy relacionadas en cuanto a homología de secuencia (94,7%) (McLellan 2013).

En ambos OMG se realizaron además las siguientes modificaciones:

- El Ad26 se volvió incompetente para la replicación mediante la eliminación de la región Temprana 1 ( $\Delta E1$ ).
- Se realizó una delección parcial de la región temprana 3 para dejar suficiente espacio en el genoma para el casete de expresión del transgén ( $\Delta E3$ ). Se eligió la delección parcial del E3, ya que contiene genes inmunomoduladores que promueven la persistencia dentro de la célula huésped.
- El marco abierto de lectura (orf) 6 de Ad26 E4 se intercambió por el de Ad5 para permitir la producción de vectores Ad26 no replicativos en estirpes celulares complementarias de la E1 de Ad5, es decir, PER.C6<sup>®</sup>.
- Se colocó la casete de expresión del transgén en la delección de E1.



## **Características del ensayo**

El ensayo clínico se realizará en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, el Hospital Universitario La Princesa, el Hospital Virgen de la Victoria y el Hospital HM Puerta del Sur.

Los OMG se administrarán intramuscularmente. Ad26.RSV-A.preF se utilizará a dosis de  $2,5 \times 10^{10}$  pv,  $5 \times 10^{10}$  pv,  $1 \times 10^{11}$  pv, o  $1,5 \times 10^{11}$  pv. Ad26.RSV-B.preF2 se utilizará a dosis de  $2,5 \times 10^{10}$  pv,  $5 \times 10^{10}$  pv o  $1 \times 10^{11}$  pv.

El promotor prevé un período de liberación de agosto de 2022 a marzo 2029.

## **Identificación de riesgos potenciales**

Los informes de evaluación del riesgo (ERMA) de los ensayos B/ES/18/27 y B/ES/21/18 están disponibles en la página [Web](#).

### **-Estabilidad fenotípica y genotípica**

Durante la producción de lotes de virus pueden producirse mutaciones. Por lo tanto, los lotes de virus se someten a un análisis de secuencia para confirmar la estabilidad genética. En resumen, la secuenciación completa del genoma mediante la tecnología Sanger se realiza con una cobertura de doble cadena y los resultados de la secuencia se alinean con la secuencia de referencia (es decir, secuencias basadas *in silico*). Se utiliza un pase de virus por encima del nivel empleado para la producción posterior a fin de garantizar la inclusión de un vector con la identidad correcta en los pasos de producción posteriores.

Se evalúa además la estabilidad genética de los vectores clínicos Ad26 al nivel de pases máximo mediante las siguientes pruebas de caracterización:

- Secuenciación de nueva generación para confirmar la secuencia del genoma.
- Análisis de Western Blot para confirmar la expresión correcta del transgén.
- Análisis de la estabilidad genética del transgén mediante PCR para confirmar el tamaño correcto del transgén.

Se demostró la integridad genética, ya que no se observaron variantes en la secuencia.

### **-Adenovirus competentes para la replicación (RCA)**

La tecnología que se utiliza para la generación de los OMG no permite la generación de adenovirus competentes para la replicación (RCA). La ausencia de solapamiento de cualquier secuencia de ADN entre el vector adenoviral y la línea celular evita su formación. Esta ausencia de secuencias solapantes se consigue poniendo la región E1 de Ad5 bajo el control de un promotor y una señal poliA distintas a al promotor y poliA de las casetes de expresión de las preF.

El requisito para analizar vectores de adenovirus con el fin de determinar la presencia de RCA se describe en Ph. Eur. 5.14 y en documentos de orientación de la FDA. Se realizarán análisis de infectividad utilizando la estirpe celular A549, donde el virus Ad26 de tipo salvaje se puede replicar de seguridad específicos para confirmar la ausencia de RCA en los lotes. El criterio de aceptación se basa en el documento de orientación de la FDA mencionado anteriormente y en la reunión número 30 del BRMAC de la FDA (Adenovirus Titer Measurements and RCA levels [Mediciones de títulos de adenovirus y niveles de RCA], 2001). Los resultados de la prueba notifican que «no se ha detectado RCA» si la prueba cumple el criterio de aceptación de  $<1 \text{ RCA}/3 \times 10^{10} \text{ PV}$ .



En la actualidad se han llevado a cabo análisis de seguridad para detectar la presencia de RCA en más de 100 lotes de Ad26 y todos cumplen el criterio de aceptación.

### **-Patogenicidad**

Los adenovirus causan generalmente infecciones suaves del tracto respiratorio, autolimitantes y generalmente asintomáticas. Para Ad26, solo se ha informado de un número limitado de estudios. Estos estudios describen infecciones gastrointestinales e infecciones oculares que pueden ser causadas por el virus salvaje Ad26.

En comparación con el Adenovirus parental, Ad26.RSV.preF y Ad26.RSV-B.preF2 están altamente atenuado ya que ninguno de los dos puede replicarse en células que no expresen la región E1 adenoviral y, por tanto, se consideran no patógenos.

La proteína F no forma parte de la cápside del Ad26.RSV.preF y Ad26.RSV-B.preF2 y, por tanto, no influye en la capacidad de infección de Ad26 y no cambia el espectro del huésped, el tropismo celular o la estabilidad ambiental del vector Ad26.

### **-Biodistribución**

#### Estudios en animales

El perfil de biodistribución del vector Ad26 se ha evaluado en estudios preclínicos utilizando dos vacunas basadas en Ad26 diferentes. Los datos mostraron que el vector Ad26 no se distribuía ampliamente después de la administración intramuscular (IM) en conejos. De hecho, el ADN del vector Ad26 se detectó principalmente en el lugar de la inyección, drenando los ganglios linfáticos y (en menor medida) en el bazo. Se observó eliminación del vector Ad26 de los tejidos. Estos datos confirman que el vector Ad26 no persiste ni se replica en los tejidos después de la vacunación. A pesar de las diferencias en los transgenes de antígeno codificados, ambos vectores Ad26 mostraron un patrón similar de biodistribución y eliminación cuando se administraron por vía IM en conejos. La adición de la proteína preF del VRS no afectó al perfil de biodistribución del vector Ad26.RSV.preF. Puesto que se considera que la biodistribución depende del vector vírico y no del transgén, los resultados de biodistribución obtenidos se consideran suficientes para informar sobre el perfil de biodistribución del componente de la vacuna del vector clínico Ad26 considerado para su inclusión en este estudio.

#### Estudios en humanos

La liberación del vector Ad26 también se ha evaluado en estudios clínicos de varias vacunas basadas en Ad26. Estos estudios de liberación muestran que el ADN del vector Ad26 solo se encuentra rara vez en los fluidos corporales secretados después de la vacunación y no se detectó ningún virus replicativo, lo que indica que el vector Ad26 no persiste ni se replica en los tejidos después de la vacunación.

### **Medidas de control y gestión del riesgo**

Los vectores clínicos sAd26.RSV.preF y Ad26.RSV-B.preF2 se almacenarán en contenedores cerrados en una localización segura con acceso limitado. Se recomienda un doble empaquetado (como en un vial primario dentro de un segundo empaquetado exterior) con material absorbente entre medias.

El transporte interno (es decir, en el centro clínico) se realiza de acuerdo con las directrices locales. Se recomienda que el transporte se realice en un contenedor cerrado que sea fácil de descontaminar, a prueba de roturas y a prueba de fugas.

Para la aplicación de las medidas de descontaminación y desinfección tras la administración de la vacuna o en caso de derrame accidental se utilizarán detergentes y métodos validados aptos para los



vectores adenovíricos. Los adenovirus se inactivan fácilmente con distintos desinfectantes como, por ejemplo, Virkon S al 0,9 % (> 5 minutos de contacto), cloro al 0,2 %, ortoftalaldehído al 0,55 % y glutaraldehído al 2,4 %.

Los materiales en contacto con los OMG deben considerarse como contaminados y todos los residuos (incluyendo los viales de la vacuna, agujas y jeringuillas) deben de introducirse en contenedores validados para residuos de riesgo biológico justo después de la administración de la vacuna.

Los materiales del estudio utilizados deberán eliminarse siguiendo los procedimientos del centro del estudio para la gestión de residuos de riesgo biológico.

Los materiales no desechables se desinfectarán con los desinfectantes adecuados o con autoclave de acuerdo con los procedimientos del centro.

El transporte local de las muestras se llevará a cabo en un recipiente cerrado, de fácil descontaminación, a prueba de roturas y fugas. Las pruebas se almacenarán en un contenedor cerrado en la instalación en un lugar de acceso restringido.

**En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).**

**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 ni el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 14 de julio de 2022