



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/18)

Título del ensayo

Estudio aleatorizado, sin enmascaramiento de fase IIb de nabpaclitaxel y gemcitabina con y sin el virus VCN-01 en pacientes con cáncer de páncreas metastásico, del promotor VCN Biosciences SL.

Organismo modificado genéticamente

El organismo modificado genéticamente, VCN-01, es un adenovirus oncolítico derivado de HAd5 diseñado para el tratamiento de tumores desmóticos. Su genoma contiene diversas modificaciones que le confieren capacidad de replicación selectiva en células tumorales, lo que resulta en una potente capacidad de eliminación de tumores humanos. Las cuatro modificaciones genéticas respecto a la cepa salvaje HAd5 son:

- 1) La inserción de un promotor tumor-específico que inhibe la expresión de proteínas virales en células normales.
- 2) La mutación en $\Delta 24$ del gen E1A que impide que el virus replique en células normales.
- 3) La sustitución de un dominio de la proteína de la fibra del adenovirus para reducir la llegada del virus al hígado.
- 4) Inclusión de una unidad de expresión para el gen de la hialuronidasa de esperma humano (PH20), enzima degradadora de matriz que hace aumentar la diseminación intratumoral del efecto oncolítico dentro del tumor. La hialuronidasa es una enzima degradadora de ácido hialurónico; y éste, uno de los principales componentes de la matriz extracelular que envuelve las células tumorales *in vivo*. La expresión de hialuronidasa por el virus (en color rosa en el esquema) favorece la diseminación intratumoral del virus, y la extravasación de fármacos que se administren en combinación con el virus.

La ausencia de elementos no deseados en el virus final se evalúa tanto en los plásmidos intermedios generados para la obtención de VCN-01 como en los distintos lotes de virus intermedios hasta la generación del lote clínico final a inyectar en los pacientes. La comprobación de la secuencia de los diferentes constructos se realiza mediante 2 técnicas:

- por secuenciación con oligonucleótidos específicos de las regiones a evaluar y comparación con la secuencia teórica.
- por mapa de restricción (digestión del genoma completo con enzimas de restricción y comparación con el patrón de bandas teórico).

Características del ensayo

El promotor prevé un período de liberación del 01/10/2022 al 30/04/2024.

En el ensayo participarán el Hospital Universitario 12 de Octubre, el Hospital Universitario Vall d'Hebron, el Hospital Duran i Reynals (ICO), el Hospital Miguel Servet, el Hospital Gregorio Marañón, el Hospital General Universitario de Valencia y el Hospital Universitario Virgen de la Victoria.



El OMG se administrará a los pacientes por infusión endovenosa. Cada paciente recibirá un máximo de dos dosis de VCN-01 (1×10^{13} vp cada una).

Una vez VCN-01 infecta una célula tumoral, el virus reconoce si la célula expresa niveles altos del factor de transcripción E2F-1 (característico de este tipo de células) y en caso de que así sea, el virus activa su maquinaria replicativa. Con ello acabará eliminando la célula tumoral infectada y generará aproximadamente 10.000 copias de sí mismo que infectarán las células circundantes, donde nuevamente reconocerán si éstas son tumorales o normales. Adicionalmente la expresión de hialuronidasa por parte de VCN-01 favorecerá la diseminación de la progenie viral, y, en caso de administrarse el virus con quimioterapia, mejoraría también la difusión intratumoral de la gemcitabina y nab-paclitaxel. Globalmente, el mecanismo terapéutico de VCN-01 se explica como la combinación del efecto lítico del virus, su capacidad de modificación de la matriz extracelular y la consiguiente quimiosensibilización.

La excreción de genomas de VCN-01 se evaluará en sangre los días 1º, 8º y 15º de cada ciclo de tratamiento y un mes (± 1 semana) después de la última dosis de tratamiento.

Todos los controles de los niveles de virus en sangre del paciente se efectuarán mediante la técnica de qPCR para la presencia de adenovirus en el laboratorio encargado para el análisis de las muestras.

Identificación de riesgos potenciales

El OMG se ha liberado en dos ensayos, B/ES/13/05 y B/ES/13/04, autorizados el 8 de febrero de 2013. Los informes de evaluación del riesgo están disponibles en la página [Web](#).

-Patogenicidad

El conjunto de alteraciones genéticas que contiene VCN-01 reduce de forma substancial la patogenicidad del HAd5. El OMG es defectivo en replicación en células normales humanas, y solo afecta a células tumorales humanas, por lo tanto, se trata de una versión atenuada de la cepa salvaje. De hecho, VCN-01 únicamente replica y elimina las células constituyentes de los tumores humanos y deja intactas los tejidos sanos del organismo humano. Con ello también se reduce la capacidad de colonización (restringiéndose a tumores) y reduce sus propiedades alergénicas.

-Diseminación

El mismo OMG (VCN-01) ha sido administrado en un total de 71 pacientes en distintos ensayos clínicos tanto solo como en combinación con otros tratamientos y mediante distintas rutas de administración (intravenosa, intratumoral e intravítrea). Los datos de diseminación de un ensayo clínico en el que VCN-01 se administró solo o en combinación con Abraxane/Gemcitabina han demostrado que tras la administración endovenosa la probabilidad más elevada de transmisión horizontal del OMG se encuentra durante los primeros 8 días post-administración. No obstante, la probabilidad de transmisión horizontal es baja debido a varios factores: 1) VCN-01 es un virus atenuado y muy selectivo a replicarse en células tumorales, 2) hay degradación e inhibición de las partículas virales en los fluidos de excreción como son las heces, esputo y orina, y 3) las medidas de prevención recomendadas a los pacientes durante los primeros 10 post tratamiento.

Hasta la fecha no se ha dado ningún caso de infección por VCN-01 por parte de los profesionales médicos en contacto con los pacientes tratados, ni por parte de los familiares y entorno de dichos pacientes una vez regresan a casa después de haber recibido VCN-01 en las instalaciones del centro de estudio. Por lo tanto, no se han producido efectos adversos con impacto en el medio ambiente ni sobre la salud humana.



-Estabilidad

La estabilidad genética de VCN-01 se ha garantizado a nivel de diseño y a nivel de su producción.

El diseño del virus se ha efectuado de forma que el tamaño génico resultante después de haber incluido las distintas modificaciones genéticas deseadas no supere el 105%. Además, el virus no incluye ningún elemento genético repetido dentro de su genoma que permita la recombinación homóloga intragenómica (un mecanismo que se ha postulado que introduce inestabilidad y recombinaciones en los adenovirus oncolíticos).

La estabilidad genética de VCN-01 se ha confirmado con distintos lotes in-house utilizados en preclínica y se hace de rutina en cada nuevo lote producido. El método de elección es un ensayo *in vitro* de bioamplificación en células no permisivas y comparación del genoma del virus resultante con el genoma del virus del inóculo inicial. Después de cuatro pases consecutivos en condiciones de alta presión selectiva, se confirma la estabilidad genética del genoma de VCN-01 puesto que no hay diferencias entre los pases cuando se compara su citotoxicidad, expresión de hialuronidasa funcional, y patrón de bandas por digestión con enzimas de restricción.

Por otro lado, se ha confirmado en estudios preclínicos *in vivo*, que después de muchos ciclos de replicación en el interior de tumores humanos tratados terapéuticamente con VCN-01, el virus continúa expresando funcionalmente las modificaciones genéticas que le caracterizan.

-Virus contaminantes competentes en replicación (VCR)

En referencia a las medidas establecidas para garantizar la estabilidad genética a lo largo del proceso de producción, se ha seleccionado como línea productora de virus, una línea tumoral humana que no contiene ninguna secuencia genética del adenovirus integrada. Además, se confirmó la ausencia de contaminantes virales en el Banco Maestro de Células, incluyendo el análisis de HAd5 mediante qPCR para la proteína E1A. De esta forma se evita la posibilidad de recombinaciones entre el genoma del virus y las secuencias integradas en las células productoras, un problema que se ha observado con frecuencia durante la producción de vectores adenovirales producidos en las líneas empaquetadoras de adenovirus clásicas.

La presencia de VCR se testa en las distintas fases del proceso productivo mediante una PCR cuantitativa que amplifica la región de E1a presente en adenovirus salvajes. Los cebadores utilizados para esta PCR han sido diseñados en base a la comparación de las secuencias del gen E1a presentes en el genoma del HAd5 y del VCN-01, permitiendo únicamente la amplificación del ADN ante la presencia de una secuencia salvaje de E1A. El límite de detección (LoD) es de 5 partículas virales por microlitro. Se considera que se detectan VCR en la muestra cuando hay más de 5 vp/ul. El criterio para la liberación del lote es no detectar VCR en la muestra.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El personal médico involucrado recibirá la formación para trabajar bajo las prácticas de bioseguridad aplicables al almacenamiento, transporte, preparación y administración de VCN-01, eliminación y gestión de residuos del OMG y estar en contacto con el paciente tratado.

Los viales de VCN-01 se guardarán en un congelador a -80°C que estará marcado con etiquetas de riesgo biológico y tendrá un sistema de control de la temperatura.

El producto debe prepararse en condiciones asépticas, dentro una cabina de seguridad biológica de clase II, que será descontaminada antes y después de la manipulación con una solución basada en un desinfectante convencional (lejía, jabón o similar).



El traslado de la preparación al lugar de administración se realizará en un envase hermético cerrado, siguiendo los procedimientos del centro hospitalario para la manipulación de vacunas con virus vivos.

La administración de VCN-01 será responsabilidad del personal médico, y se hará de conformidad con el protocolo clínico y en cumplimiento de la Buena Práctica Clínica, en una habitación individualizada del hospital.

El personal involucrado deberá utilizar bata desechable, guantes, gafas de seguridad, mascarilla protectora tipo FFP3 y polainas.

Antes de empezar el tratamiento con VCN-01, se colocarán en la puerta de la sala un letrero visible advirtiendo del tratamiento, las restricciones y los posibles riesgos, y dentro de la habitación los contenedores de residuos de tipo III (que son los considerados residuos biosanitarios especiales).

En la medida de lo posible se intentará usar en material desechable (sábanas o ropas) para estar en contacto con el paciente.

Para evitar la diseminación de OMG fuera del lugar de administración, los restos del tratamiento, así como cualquier material que haya estado en contacto directo con VCN-01, deberán ser colocados dentro del contenedor para residuos sanitarios del grupo III.

Todo el equipo y las superficies de trabajo deberán ser limpiados y desinfectados con un desinfectante convencional (lejía, jabón o similar).

Una vez se haya concluido con la administración de VCN-01, el paciente permanecerá ingresado en la misma habitación individual, donde será monitorizado durante aproximadamente 6 horas antes de darle el alta médica.

Los procedimientos a seguir por el personal y los visitantes que entren en contacto con pacientes tratados con VCN-01 quedan registrados en un protocolo, y en cualquier caso deberán llevar bata desechable, guantes, gafas de seguridad y mascarillas cuando accedan a la habitación del paciente.

De acuerdo con el protocolo clínico, se tomarán muestras del paciente para posterior análisis. Estas muestras deberán ser introducidos en una doble bolsa sellada y transportados en un contenedor rígido cerrado. Los contenedores y las bolsas serán etiquetados como productos biológicos de riesgo.

Una vez el paciente es dado de alta después del tratamiento, se limpiará la habitación normalmente con un desinfectante (lejía, jabón o similar). Se informará también a los pacientes y familiares de los procedimientos a seguir en referencia a la minimización de la diseminación del OMG.

En caso de vertido o inoculación accidental del OMG, se llevarán a cabo un conjunto de medidas pre-establecidas contenidas en el manual de estudio. El personal de limpieza del vertido deberá utilizar el equipo protector personal. Se aislará la zona del derrame y se absorberá la solución derramada con toallas de papel desechables u otro tipo de material absorbente. Se tratará con lejía al 5% y 0.5% de solución de hidróxido de sodio o una solución de Virkon por un periodo de 20-30 minutos. Todo el material de limpieza desechable usado en el lugar contaminado para recoger el material derramado se colocará en una bolsa de plástico dentro del contenedor de residuos sanitarios de tipo III. Se enjuagará la zona con agua limpia usando toallas desechables adicionales, y de nuevo, estos residuos se colocarán en el mismo contenedor. Finalmente, el personal de limpieza del vertido deberá quitarse los guantes (tirándolos en el mismo contenedor de tipo III) y lavarse las manos cuidadosamente con jabón y agua limpia. Al término de la limpieza, no debería quedar ningún material desechable que haya estado en contacto con el virus ni con la posterior limpieza de la zona fuera del contenedor de tipo III. Éste se



cerraría herméticamente y se procedería a la gestión de dichos residuos por medio de una empresa acreditada.

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 para 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 17 de julio 2022