



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN ADENOVIRUS MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/24/46)

Título del ensayo

Estudio de fase 3, multicéntrico, abierto, aleatorizado, para evaluar la seguridad y la eficacia de nadofaragén firadenovec intravesical, administrado solo o en combinación con quimioterapia (gemcitabina y docetaxel) o inmunoterapia (pembrolizumab), en sujetos con cáncer de vejiga sin invasión muscular (CVSIM) de alto grado, sin respuesta al bacilo de Calmette-Guérin (BCG).

Características del ensayo

Nadofaragén firadenovec se administrará intravesicalmente (mediante sonda urinaria) en una concentración de $3,0 \times 10^{11}$ pv/ml. Se administrará un máximo de 8 dosis trimestralmente durante el período de tratamiento de 24 meses.

El ensayo se realizará en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, el Hospital Universitario La Paz, el Hospital del Mar, la Clínica Universidad de Navarra / Madrid, la Clínica Universidad de Navarra / Pamplona, MD Anderson Cancer Center, el Hospital Universitario Fundación Alcorcón, el Hospital Universitario 12 de Octubre, el Hospital Universitario de A Coruña, el Hospital Universitario Virgen de la Victoria, el Hospital Universitario Basurto, la Fundació Puigvert, el Hospital Universitario Reina Sofía y el Hospital Clinic de Barcelona.

Organismo modificado genéticamente

Nadofaragén firadenovec o rAd-IFN es un vector de terapia génica portador del ADNc del IFN- α 2b humano en un casete de expresión que sustituye a las regiones E1a y E1b en el extremo 5' del genoma del Ad5. La eliminación de las regiones E1a y E1b del adenovirus humano hace que la replicación del vector sea deficiente. El vector también presenta eliminaciones en la proteína IX (pIX) y una delección parcial en la región 3 inicial (E3) del Ad5. La región codificadora E4 es idéntica a la región E4 en el Ad5 natural.

Identificación y evaluación de riesgos potenciales

-Adenovirus competentes para la replicación

La generación de adenovirus recombinantes con capacidad de replicación (ACR) es un fenómeno bien conocido y reconocido en el documento de referencia de la FDA: Información sobre bioquímica, fabricación y control (Chemistry, Manufacturing, and Control, CMC) para la terapia génica humana, que indica: "Se pueden generar ACR con baja frecuencia como resultado de la recombinación homóloga entre las secuencias del vector viral y las secuencias virales presentes en el sustrato celular durante la fabricación. Por tanto, para los medicamentos de terapia génica basados en adenovirus, se recomienda que el banco maestro de virus (MVB) reúna los requisitos pertinentes para los ACR y que se analice la sustancia farmacéutica (DS) o el producto farmacéutico (DP) de cada lote de producción para detectar ACR".

Adofaragén firadenovec se ha modificado para que sea incapaz de replicarse en células normales, mediante la eliminación de la región codificante temprana 1 (E1) del genoma adenoviral, así como de la proteína IX de la cápside (pIX) y parte de la región codificante temprana 3 (E3). El rAd-IFN se fabrica en una línea de células embrionarias de riñón humano en la que están presentes las partes del genoma que faltan para permitir la replicación del adenovirus y, por tanto, la producción. Con la



recombinación homóloga entre los genomas viral y celular, el virus podría obtener las partes faltantes de su genoma natural y de este modo ser competente para la replicación en células normales. La recombinación homóloga es un proceso natural y un mecanismo conocido que utilizan las células para reparar roturas en el ADN. Aunque este fenómeno se suele producir con una incidencia muy baja entre el virus recombinante y el ADN de las células hospedadoras, ocurre de manera aleatoria y no se puede evitar totalmente cuando se utilizan estas células en la producción de vectores virales.

La detección de ACR en la sustancia farmacéutica (DS) de nadofaragén firadenovec se realiza mediante un análisis celular analizando el efecto citopático.

-Estabilidad

La secuenciación en el cultivo de inóculo viral primario (MVSS) de rAd-IFN corresponde a la secuencia de referencia con una homología del 100 %.

Se realizó también secuenciación masiva de siete lotes diferentes del vector clínico. Las muestras incluyeron los lotes utilizados para el desarrollo clínico y cuatro lotes de producción de 2015.

Los análisis de variantes bioinformáticas realizados confirmaron que los siete lotes analizados corresponden a la secuencia de referencia (la secuencia del vector original mediante secuenciación de Sanger convencional) y que las variantes observadas en la secuencia de codificación de la polimerasa E2B del Ad5 no influye en un mayor riesgo de patogenicidad, replicación y capacidad de integración del vector en comparación con el adenovirus humano natural.

La identidad del producto se confirma mediante PCR, análisis de enzimas de restricción (ensayo de integridad del genoma) y mediante tres ensayos independientes que miden la actividad biológica del producto: expresión, potencia e infecciosidad. En caso de que durante la fabricación se produzca una gran delección en el transgén y/o en el casete de expresión, se detectará esta circunstancia y el lote no cumplirá con los criterios de liberación.

-Patogenicidad

El serotipo 5 del adenovirus no tiene reservorios animales naturales conocidos y se replica exclusivamente en células humanas. El adenovirus de tipo 5 causa una infección transitoria en el hombre. Se sabe que el serotipo 5 del adenovirus (Ad5) natural se replica solo en muy pocos animales que no sean de la especie humana cuando se infectan de manera experimental, básicamente el hámster dorado y, hasta cierto punto, en la rata algodonera.

Los adenovirus naturales se consideran endémicos en la mayor parte del mundo. La infección se produce generalmente durante la infancia. El Ad5 se asocia principalmente a infecciones respiratorias, digestivas, incluidas las hepáticas, y urinarias. Las infecciones en el recién nacido, aunque suelen ser pasajeras, pueden ser graves e incluso mortales; los niños pequeños son particularmente sensibles a los tipos de adenovirus 1, 2, 3 y 5, que son la causa más común de faringoamigdalitis.

Las infecciones por adenovirus en los pacientes inmunodeprimidos pueden aumentar significativamente la morbilidad y la gravedad de la enfermedad.

En el rAd-IFN se ha eliminado el gen adenoviral E1 natural, lo que hace que el virus no pueda replicarse ni tenga poder patógeno. También se ha eliminado el gen adenoviral E3, que hace que el virus sea más susceptible al sistema inmunitario de defensa humano. Por lo tanto, no se espera que la exposición al rAd-IFN dé lugar a una infección productiva, ni siquiera en aquellos pacientes a los que se inyecten dosis altas directamente.



-Clonalidad y oncogénesis insercional

El adenovirus se replica en el citoplasma de las células infectadas y el ADN vírico no se integra en el ADN de la célula hospedadora.

-Riesgo de transferencia genética

Entre los adenovirus se puede producir recombinación natural dentro de los diferentes subgrupos, pero no entre los subgrupos. Por lo tanto, el Ad5 puede recombinarse con adenovirus humanos de los tipos 1, 2 y 6, pertenecientes todos ellos (incluido el Ad5) al subgrupo C de adenovirus humanos.

Dicha recombinación solo sería posible en caso de coinfección por más de una cepa de adenovirus del mismo subgrupo. En el caso improbable de que sucediera, la casete de expresión del IFN sería sustituido por la región E1 del tipo natural del adenovirus, lo que lo convertiría en un virus capaz de replicarse, pero con la delección del gen E3, aumentando así la susceptibilidad del virus a su eliminación por sistema inmunitario humano, o se generaría un virus incapaz de replicarse que contendría E3 y el transgén.

-Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

La capacidad de supervivencia del Ad5 depende de la capacidad de replicarse en el interior de la célula hospedadora. Fuera del hospedador, el Ad5 natural es un virus sin envoltura que puede inactivarse por medios físicos y químicos. No forma estructuras de supervivencia, pero puede sobrevivir fuera del organismo hospedador. La mayoría de los serotipos son estables a 36 °C durante una semana, a temperatura ambiente durante varias semanas y a 4 °C durante varios meses. Los adenovirus son muy estables en el medio ambiente y pueden sobrevivir de 7 días a 3 meses en superficies secas inanimadas. También pueden sobrevivir durante semanas en el agua del grifo, los efluentes de aguas residuales y el agua de mar.

La transmisión de adenovirus naturales puede realizarse a través del agua, el aire o por contacto directo.

Los vectores adenovirales se eliminan normalmente mediante el sistema reticuloendotelial, lo que reduce la posibilidad de transmisión horizontal. Si un adenovirus deficiente en replicación o un adenovirus competente para la replicación se introducen en un nuevo huésped por diseminación, es probable que el virus sea eliminado por el sistema inmunitario del huésped a menos que el paciente esté inmunodeprimido. El riesgo de transmisión horizontal se reduce aún más por la probable presencia de anticuerpos antiadenovirales preexistentes en el huésped. Los análisis publicados de los datos de diseminación de adenovirus de estudios clínicos indican que la diseminación es limitada.

En los estudios preclínicos de biodistribución se ha utilizado el modelo de macaco. Tras la administración intravesical de rAd-IFN, las muestras de orina mostraron que la proteína humana del IFN era detectable en los animales tratados. Los estudios de PCR de sangre y tejido vesical respaldan los resultados del ELISA, con ADN específico del rAd-IFN detectable en muestras de sangre y tejido de animales tratados, pero no en sangre y solo en una muestra.

La farmacocinética clínica del ADN del vector en la sangre y la diseminación del virus en la orina se caracterizaron en distintos estudios. En estos estudios se detectaron concentraciones de ADN en la orina hasta el día 14. La detección de ADN mediante qPCR no indica necesariamente la presencia de rAd-IFN intacto en la orina y no se realizó una evaluación de la infecciosidad de las muestras qPCR positiva.



Manipulación, control y tratamiento de residuos

El acceso a las zonas en las que se prepare o administre rAd-IFN deberán ser limitadas o restringidas. rAd-IFN se transportará a la habitación del paciente en un recipiente cerrado, hermético e irrompible.

Las superficies de trabajo contaminadas se descontaminarán con un desinfectante aprobado después de la manipulación del rAd-IFN también cuando no se observe contaminación.

Se requiere protección respiratoria con un mínimo de media mascarilla desechable para uso médico o un equivalente para la descontaminación y la limpieza de derrames.

Deben utilizarse guantes (p. ej., de látex o nitrilo) para reducir el riesgo de exposición al rAd-IFN, fluidos corporales o superficies o equipos contaminados. El uso de 2 pares de guantes puede ser adecuado.

El vector clínico debe manipularse dentro de una cabina de bioseguridad certificada siempre que sea posible. Protección facial (p. ej., gafas de seguridad, gafas, mascarilla médica, protector facial u otra protección contra salpicaduras) para mitigar el riesgo de salpicaduras o aerosoles de rAd-IFN en la cara cuando el producto debe manipularse fuera de la cabina de bioseguridad.

Se usarán prendas de protección como batas, delantales, batas de laboratorio, chaquetas médicas o prendas exteriores similares designadas para uso clínico al preparar y administrar rAd-IFN. Toda la ropa de protección se desecha o se retira antes de abandonar el área en la que se ha preparado o administrado.

Los materiales contaminados con rAd-IFN son desechos biológicos, se tratarán por incineración o autoclavado.

La obtención, conservación y procesamiento de cualquier muestra biológica no implicarán medidas de seguridad o contención adicionales aparte de las habituales en los procedimientos hospitalarios y las prácticas clínicas habituales en las que se supone que existe la presencia de patógenos (p. ej., durante los procedimientos de extracción y transporte de sangre). El transporte de las muestras desde las instalaciones donde se obtienen hasta las instalaciones de conservación/análisis se realizará en recipientes herméticos. Las precauciones y los procedimientos habituales incluyen el uso de equipos de protección, incluidos batas o uniformes de laboratorio y guantes.

Todos los residuos (incluidos los guantes y otros materiales desechables que entran en contacto con las muestras biológicas) y cualquier muestra biológica no utilizada se procesarán como desechos biológicos.

En el documento de información al paciente se recogen las medidas que estos deberán aplicar para evitar la diseminación del OMG.

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 y/o 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 20 de junio de 2025