



## **EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN ADENOVIRUS MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/11/25)**

### **Título del ensayo:**

“Ensayo clínico en fase II de vacunación terapéutica de pacientes con hepatitis crónica C mediante la administración de células dendríticas autólogas transducidas con un vector adenoviral que codifica la proteína NS3”.

### **Características del ensayo:**

La Clínica Universitaria de Navarra presenta una solicitud para realizar un estudio clínico utilizando el vector adenoviral AdNS3 (vacunación en fase I/II en pacientes con hepatitis crónica C genotipo 1b sin respuesta al tratamiento antiviral convencional). El objetivo del presente ensayo es la valoración de la seguridad de la administración de células dendríticas autólogas derivadas de monocitos que se transducen con AdNS3 a este tipo de pacientes.

No se prevé una administración directa del OMG a los pacientes, sino de un producto celular autólogo (células dendríticas) previamente transducido con AdNS3. Se incluirán entre 12 y 20 pacientes, y se va a tratar tres grupos de pacientes en diferentes escalones de dosis en función del número de células administradas. Cada célula se transduce con 30 unidades infecciosas de virus, lo que supone  $1,5 \times 10^8$ - $3 \times 10^8$ - $6 \times 10^8$  unidades infecciosas en cada una de las tres administraciones. El producto celular será lavado numerosas veces antes de ser administrado de modo que la cantidad de virus extracelular en el producto final se puede considerar irrelevante.

El notificador pretende iniciar el ensayo clínico en septiembre de 2011, con una duración estimada de dos años.

Está previsto llevar a cabo el ensayo en la Clínica Universitaria de Navarra. El procedimiento de transducción de las células dendríticas se realizará en una cabina de flujo laminar de seguridad biológica de Clase IIA, que se encuentra dentro de un laboratorio de contención biológica de tipo 2. El producto celular será envasado en viales sellados herméticamente, etiquetados y sólo serán destinados a uso clínico. La administración del producto terapéutico se hará en una habitación del hospital de día, que dispone de señal de peligro biológico en la puerta.

El personal que administre el producto celular utilizará guantes, mascarilla y bata desechables y trabajará cumpliendo las normas de Buenas Prácticas de Laboratorio y Buenas Prácticas Clínicas. Además, dicho personal recibirá instrucciones sobre los procedimientos para actuar en caso de liberación accidental del OMG.



### **Características del OGM:**

El AdNS3 es un adenovirus recombinante defectivo sin capacidad replicativa derivado del adenovirus humano tipo 5, el cual está clasificado como tipo 2. Se ha llevado a cabo una delección de los genes adenovirales E1 y E3, por lo que no es competente para replicarse en células, a excepción de la línea celular HEK293.

Por otro lado, en su genoma se ha insertado secuencias exógenas correspondientes a un cassette de expresión de la proteína NS3 del virus de la hepatitis C, que comprende el promotor del citomegalovirus, la secuencia de la proteína NS3 y una región de poliadenilación del virus SV40.

Con todas estas modificaciones se pretende que en aquellas células que se infecten por AdNS3 puedan expresarse la proteína NS3 del VHC, pero no exista la replicación viral. Si, como en este caso, AdNS3 infecta células dendríticas, estas pueden presentar fragmentos antigénicos de NS3 a los linfocitos, para la activación de respuestas inmunitarias frente al virus de la hepatitis C.

### **Identificación de riesgos potenciales:**

#### **1) Estabilidad genética:**

El notificador informa que la estabilidad genética se verificará mediante análisis genético del adenovirus AdNS3, realizando PCR de la zona que contiene el material genético insertado y secuenciación para verificar su identidad.

#### **2) Patogenicidad:**

El adenovirus humano tipo 5 está clasificado como de nivel de bioseguridad de clase 2, y se caracteriza por originar enfermedad respiratoria aguda. Los síntomas incluyen fiebre, rinitis, faringitis, tos y conjuntivitis, y es causa frecuente de faringitis exudativa no estreptocócica en niños menores de 3 años. Los cuadros más serios comprenden laringitis, crup, bronquiolitis o neumonía graves y puede aparecer un síndrome faringo-conjuntival.

La eliminación del gen E1 del genoma de AdNS3 lo incapacita para su replicación. Por tanto, mientras que el adenovirus salvaje puede infectar y replicarse en una gran variedad de células y tejidos, originando la patogenicidad característica de estos microorganismos, AdNS3 sólo permite infecciones primarias, impidiendo que a partir de las células originalmente infectadas se transmita a otras, lo que daría lugar a una patogenicidad menor o inexistente. Además, AdNS3 no se va a administrar directamente a los pacientes, sino que se utilizará para la infección in vitro de células dendríticas, que se lavarán exhaustivamente para eliminar las partículas adenovirales que no hayan infectado a estas células. Por ello, una vez en el interior de estas células AdNS3 no está capacitado para replicarse y expandirse.



Los pacientes incluidos en el estudio clínico serán sometidos a un seguimiento clínico y analítico para la evaluación de posibles efectos secundarios en los principales órganos y aparatos. Cualquier efecto adverso detectado durante los seis meses de seguimiento será registrado en el cuaderno de recogida de datos.

### **3) Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación:**

AdNS3 presenta una desventaja con respecto a los adenovirus humanos tipo 5 salvajes, y es su incapacidad para replicarse, a excepción de en la línea celular HEK293, que expresa el gen adenoviral E1, que ha sido eliminado en AdNS3. Esto supone que en las condiciones de liberación, las células dendríticas transducidas con AdNS3 no pueden generar nuevas partículas infecciosas que permitan la diseminación de la infección.

El rastreo y detección de AdNS3 se hará mediante PCR cuantitativa a tiempo real con cebadores específicos de las regiones correspondientes al inserto.

El mismo equipo de investigación realizó un ensayo clínico con células dendríticas transducidas con un vector adenoviral que expresaba el gen de la IL-12. En más de 20 administraciones se realizaron estudios de liberación viral en muestras biológicas mediante técnicas de PCR. En ningún paciente se detectó presencia de partículas virales en los líquidos biológicos examinados (saliva, esputo y orina), ni en heces. En el suero de la mayoría de los sujetos se detectó RNA viral que en ningún caso se mantuvo a las 24 horas de la administración.

### **4) Efectos sobre la salud humana, otros organismos no diana y el medio ambiente:**

El notificador considera que no existe posibilidad de diseminación del adenovirus AdNS3 y, por tanto, no se contemplan interacciones de AdNS3 con otros organismos ajenos a la investigación, que posteriormente pudieran causar un impacto en el medio ambiente.

Si se produjera una liberación accidental y algún miembro del personal entrara en contacto con AdNS3, existe un plan de actuación para estos casos. En el hipotético caso de que esto ocurriera y alguna persona resultara infectada con el adenovirus, la patogenicidad de AdNS3 estaría relacionada con la ya descrita para los adenovirus humanos del tipo 5, pero de una magnitud menor, puesto que en este caso se trata de un adenovirus no replicativo.

### **5) Control y tratamiento de residuos.**

Los residuos de material resultantes de la manipulación de microorganismos modificados genéticamente, así como los materiales en contacto con los anteriores, se consideran residuos sanitarios específicos (Grupo III), y se gestionarán como tal por una empresa gestora de residuos. El traslado del material contaminado se realizará en contenedor amarillo herméticamente sellado o en una bolsa roja de galga especial etiquetada.



En el hospital de día los lugares en los que se administrará el producto se limpiarán con hipoclorito sódico diluido al 1%, inmediatamente después de la administración.

**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, los ensayos no suponen un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.**

Una vez concluidos estos ensayos se remitirá un **informe de resultados** de los mismos a la Comisión Nacional de Bioseguridad. En dicho 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 18 de mayo de 2011