



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS VACCINIA MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/15/12)

Título del ensayo

Estudio en fase I, multicéntrico, abierto, de un solo brazo, para evaluar la seguridad y eficacia de la vacuna MVA.HIVconsv administrada en combinación con romidepsina en el control viral tras la interrupción del tratamiento antirretroviral en individuos VIH-positivos tratados precozmente.

Características del ensayo

IrsiCaixa AIDS Research Institute presenta una solicitud para realizar un ensayo clínico en fase II para analizar la seguridad y la capacidad de la combinación del OMG con el medicamento romidepsina para reducir el reservorio viral (la romidepsina induce la expresión del VIH en poblaciones CD4 latentemente infectados de pacientes con carga viral suprimida).

El ensayo se dividirá en dos fases:

- En la primera parte del ensayo (parte A: fase de intervención) se administrará romidepsina después de una primera vacunación de refuerzo con MVA.HIVconsv.
- En la segunda parte del ensayo (parte B: MVA.HIVconsv más pausa antirretroviral monitorizada) se administrará otro refuerzo de vacuna con MVA.HIVconsv 4 semanas después de la infusión con romidepsina.

El ensayo clínico se desarrollará en la Fundación IrsiCaixa del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol de Badalona en colaboración con el Hospital Clínic de Barcelona; aunque el uso de la vacuna viral modificada genéticamente se realizará en un único centro y en una unidad de investigación de fase I especial para este tipo de ensayos (Unidad Polivalente de Investigación Clínica (UPIC), localizada en la planta 2 del edificio maternal del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

La liberación del OMG se realizará en el mismo lugar, bajo las mismas medidas propuestas y en los mismos pacientes que en la notificación **B/ES/12/10**.

Características del OMG

El OMG, MVA.HIVconsv, se obtiene a partir del Virus vaccinia vivo recombinante, atenuado (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 *cassette*, HIVconsv, sintetizada químicamente, constituida por 14 fragmentos del genoma HIV-1, de entre 27 y 128 aa cada uno, de las regiones más conservadas de los 4 subtipos predominantes del HIV-1, los subtipos A, B, C y D. En la síntesis se utilizaron codones de aminoácidos humanizados lo que permite mejorar la estabilidad nuclear y la exportación del ARN heterogéneo nuclear (ARNnh) y puede optimizar la traducción del ARNm. El gene que codifica para



HIVconsv se inserta en el locus de la timidina quinasa bajo el control del promotor p7.5 en el vector viral MVA.

El tamaño del gen quimérico es de 2,5 kpb y codifica, además de las 14 las regiones más conservadas del VIH-1, un fragmento 15 que incluye un epítipo reconocido por células T CD8+ de *Rhesus macacos* y ratón que permite la determinación de la respuesta inmune inducida por la vacuna en monos y ratones, respectivamente. También se añadió el epítipo del anticuerpo monoclonal mAb PK al extremo C-terminal para facilitar la detección de la expresión de la proteína. HIVconsv es un inmunógeno para células T VIH-1 específicas diseñado para combatir la enorme variabilidad del VIH-1.

La proteína quimérica HIVconsv se clonó previamente en el plásmido pSC11 obteniendo el plásmido pSC11.HIVconsv.

El MVA.HIVconsv se obtienen por recombinación homóloga entre secuencias homologas de MVA silvestre y del plásmido que codifica para VIHconsv, pSC11.HIVconsv, para lo cual el plásmido es transferido a células de embrión de pollo infectadas con el MVA silvestre.

Administración

Para el ensayo clínico la vacuna se suministra como suspensión estéril conteniendo $\geq 1.0 \times 10^8$ pfu/0.2 ml en tampón (10 mM Tris-HCl pH 7.7, 140 mM NaCl), en viales para inyección.

La descongelación y manipulación de la suspensión se realizará en cabina de bioseguridad de tipo 2 localizada en la Unitat VIH adyacente al lugar de administración (Unitat Polivalent de Investigació Clínica UPIC). La dosis se prepara en jeringa con aguja que se inserta directamente en el vial con tapón de goma. El área se descontamina antes y después con lejía y alcohol de 70°.

Los viales se almacenan en la unidad de farmacia del Hospital a -80°C.

El punto de inyección se cubrirá con una tirita o esparadrapo.

No se prevén instrucciones a los voluntarios.

La Comisión Nacional de Bioseguridad considera necesario que el notificador elabore una hoja informativa clara y fácilmente comprensible para los pacientes sobre la naturaleza del tratamiento, los posibles riesgos del mismo, las precauciones a tomar en su domicilio y la comunicación al investigador de cualquier efecto observado en relación con el tratamiento. Deberá enviarse una copia de dicha nota a la Comisión Nacional de Bioseguridad.



Identificación de riesgos potenciales

Estabilidad genética

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).

Los test de identificación y validación para confirmar la integridad y estabilidad del MVA.HIVconsv son:

- Pureza, (ausencia de MVA silvestre) mediante PCR, utilizando cebadores que amplifican la timidina quinasa (lugar de inserción de HIVconsv).
- Identidad, mediante PCR, utilizando cebadores específicos para amplificar HIVconsv.
- Identidad, mediante secuenciación del HIVconsv.

Patogenicidad

La manipulación de MVA recombinantes o de vectores derivados de MVA requiere un nivel de contención 1.

La infección por el virus vaccinia es muy leve y normalmente asintomático en individuos sanos, pero puede causar una leve erupción y fiebre. Sin embargo, se producen en ocasiones algunas complicaciones y efectos secundarios y la probabilidad de que esto ocurra es significativamente mayor en personas inmunocomprometidas. El MVA que fue utilizado como vacuna en la campaña de erradicación de la viruela no produjo ningún evento adverso grave.

El uso de MVA como vector de vacuna se ha descrito extensamente en la literatura, además existe una amplia experiencia en seguridad tras su uso en la última etapa en la campaña de erradicación de la viruela.

MVA es un virus genéticamente estable incapaz de integrar su DNA en el genoma del huésped y permanece localizado en el citoplasma celular. No se conoce ningún poxvirus capaz de complementar al MVA para generar un virus competente para la replicación y nunca se documentado la reversión espontánea del MVA al virus de la viruela vaccinoide parental.

Para la construcción del vector se han producido seis grandes deleciones genómicas en el MVA, aproximadamente 24 kpb, eliminándose el 15% del genoma parental incluido los genes de receptores de citoquinas, el gen que codifica para una de las proteínas mayoritarias (ORF F5L), genes de evasión inmune, de virulencia y dos de los cinco genes del huésped. El virus ha sido atenuado por pases seriados en fibroblastos de embrión de pollo.

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV-1) está clasificado como nivel de bioseguridad de clase 3^D. Las infecciones por HIV-1 se limitan a humanos y chimpancés y su transmisión es por contacto con sangre, relaciones sexuales o por transmisión vertical de madre a hijo durante el embarazo y parto. Los fragmentos del genoma del HIV-1 incluidos en el inserto HIVconsv no están implicados en las propiedades patógenas o nocivas del virus.



Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Dadas las características de la atenuación no es probable que el OMG pueda ser liberado al ecosistema así como su diseminación desde el lugar de liberación. La primera liberación del OMG fue bajo el expediente B/ES/12/10. Durante el período de liberación no se recogió ningún incidente. Tras la evaluación por la Comisión Nacional de Bioseguridad se consideró necesario llevar a cabo estudios de biodistribución para asegurar la no diseminación en el medio ambiente a través de los fluidos corporales de los pacientes participante es el ensayo.

De acuerdo con los resultados, no se demuestra la excreción del OMG a través de de los fluidos corporales de los pacientes por lo que no se prevé realizar ensayos de biodistribución en el presente estudio al tratarse de los mismos pacientes, OMG y condiciones de liberación.

Los resultados de los estudios de biodistribución correspondientes a la notificación B/ES/12/10 deben remitirse lo antes posible a la Comisión Nacional de Bioseguridad.

Eliminación de residuos

El lugar de liberación se limpiará con hipoclorito sódico diluido al 1% y con desinfectantes inmediatamente después de la liberación.

Los residuos sólidos irán siempre en bolsa roja y serán considerados como “Residuos Sanitarios del Grupo III” y se gestionarán como tales. El vial de vacuna se colocará en una bolsa sellada para su destrucción de forma agrupada al final del ensayo.

Se deberá informar a la Comisión Nacional de Bioseguridad de manera inmediata en el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente.

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 30 de noviembre de 2015