



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS VACCINIA MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/16/11)

Título del ensayo

Estudio de fase I, aleatorizado, controlado con placebo, para evaluar la seguridad, tolerabilidad e inmunogenicidad de las vacunas para el VIH-1 experimentales, DNA.HTI y MVA.HTI, en adultos voluntarios VIH-1 negativos.

Características del ensayo

Aelix Therapeutics en colaboración con IrsiCaixa, AIDS Research Institute presenta una solicitud para realizar un ensayo clínico que tienen por finalidad ensayar la seguridad e inmunogenicidad, y la capacidad del OMG (MVA.HTI) en combinación con un plásmido, que contiene el mismo transgén (DNA.HTI), para reducir el reservorio viral.

Administración

Las vacunaciones con MVA.HTI se realizarán en las consultas de la Unidad Polivalente de Investigación Clínica (UPIC), localizada en la planta 2 del edificio maternal del Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, que es la unidad de investigación para fases I del Hospital Universitario Germans Trias i Pujol.

La administración se realizará por vía intramuscular. La pauta de vacunación consiste en un escalado de dosis de 1 mg, 4 mg y 8 mg de DNA-HTI durante las semanas 0, 4 y 8, seguida de la administración de 2×10^8 pfu MVA.HTI las semanas 16 y 20.

Se incluirán un máximo de 26 personas (20 sujetos recibirán el tratamiento y 6 recibirán placebo).

En total se calcula que se administraran un máximo de 40 viales con una dosis única de 2×10^8 pfu por vacunación (2 vacunaciones).

Existen $\geq 4,0 \times 10^8$ pfu/mL por vial, 700 μ l en cada vial para inyecciones de 500 μ l.

Seguimiento

Los pacientes serán seguidos durante 32 semanas después de la primera administración (20 semanas de tratamiento y 12 de seguimiento después de la última vacunación). Los estudios de biodistribución realizados en ratones y simios, cuyo inserto y sistema de producción es equiparable a MVA.HTI, no han demostrado detección del OMG fuera del lugar de inoculación. Tampoco se ha detectado en los ensayos clínicos con OMG similares, por lo que no se va a hacer seguimiento del OMG en líquidos biológicos.



Características del OMG

El OMG, MVA.HTI, se obtiene a partir del virus vaccinia vivo recombinante (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 secuencia sintética (HTI) que contiene segmentos del genoma del lentivirus VIH-1. El diseño de la HTI se basó en la identificación de dianas para las células T provenientes de 232 individuos infectados por el VIH del subtipo B, no tratados. HTI es una secuencia constituida por 16 fragmentos del genoma del VIH-1 cada uno entre 11 y 78 aminoácidos de longitud y que codifican para dianas críticas de las proteínas víricas Gag (45%), Pol (44%), Vif (8%) y Nef (3%). El fragmento HTI contiene, además, residuos de alanina (uno, dos o tres residuos de alanina) entre los segmentos que se incluyeron con el fin de inducir la escisión proteolítica preferentemente entre los segmentos, y evitar así la digestión prematura del epítipo, un péptido señal de GM-CSF (Factor estimulante de colonias de granulocito y macrófagos) humano (AA 1-17) en el extremo N-terminal, para mejorar la translocación al retículo endoplásmico, y una secuencia polipeptídica (FLAG-tag) en el extremo C-terminal que permite la detección mediante anticuerpos comerciales.

La secuencia HTI se inserta en el locus de la timidina quinasa del MVA mediante recombinación homóloga tras la transfección de células CEF infectadas con la cepa MVA parental y un plásmido portador de secuencias de la timidina quinasa a cada lado de la secuencia HTI.

La función de HTI es la inducción de una respuesta inmunitaria de células T VIH-1 específicas, dirigidas contra las regiones incluidas en HTI, que pueden ayudar a controlar la infección por VIH-1 de forma eficaz.

Identificación de riesgos potenciales

1. Estabilidad genética

Hasta el momento actual se ha construido siete MVA recombinantes que han entrado en ensayos clínicos, dos de ellos transgenes derivados de VIH-1 (HIVA y HIVconsv). Los datos de estabilidad de dos de los productos estrechamente relacionados (MVA85A y MVA.HIVA), que habían pasado por el mismo proceso de fabricación, mostraron estabilidad durante un periodo de 6 años. El tamaño de los transgenes de HIVA y 85A, 1.584 pb y 1.107 pb respectivamente, es similar al tamaño del gen HTI (1.587 pb).

La estabilidad genética se verifica en distintos pasos del proceso de producción. Los tests de identificación y validación para confirmar la integridad global del genoma del MVA.HTI (por lo tanto de su estabilidad genética) incluyen amplificación de HTI mediante PCR y secuenciación de la secuencia HTI.



2. 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.

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.

Los fragmentos del genoma incorporadas en el inserto no están implicadas en la patogenicidad del VIH-1.

3. Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

MVA es susceptible a diferentes agentes químicos utilizados como desinfectantes, como hipoclorito sódico al 1% y glutaraldehído al 2%, y se ha demostrado sensibilidad al calor como método de inactivación física. Así, una eliminación completamente eficaz se consigue mediante autoclavado a 121°C durante 15 minutos.

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 ha documentado la reversión espontánea del MVA al virus de la viruela vaccinoide parental.

Dadas las características de la atenuación, así como las medidas adoptadas en la liberación no es probable que el OMG pueda ser liberado al ecosistema ni es probable la diseminación desde el lugar de liberación.

Transporte

Para el transporte del OMG desde el lugar de preparación hasta la UPIC, se usa el sistema hermético a prueba de fugas, BD Phase1™ para evitar cualquier riesgo de contaminación durante este transporte. Las jeringas que contienen el OMG se transportarán en una bandeja de transporte a temperatura



ambiente dentro de una caja de pórex (poliestireno expandido). La distancia de la farmacia a la UPIC es de una planta.

Gestión de residuos

Los viales serán mantenidos a -65°C y almacenados hasta su uso en las unidades de farmacia del centro participante. La descongelación y preparación de la suspensión se realizarán en condiciones asépticas en cabinas de bioseguridad tipo 2 en el servicio de farmacia del hospital, que se limpiará antes y después del proceso con lejía y alcohol de 70° . La suspensión de virus se transferirá a una jeringa de 1 ml de insulina en condiciones asépticas mediante un dispositivo de transferencia de sistema cerrado validado (CSTD, BD PhaSealTM) para su dispensación.

Los lugares de administración del producto en la UPIC se limpiarán con hipoclorito sódico diluido al 1%, inmediatamente después de la administración.

El material utilizado se considera residuo sanitario Grupo III y se gestionará como tal.

Los guantes, mascarilla y bata se desecharán en una bolsa roja y las agujas en contenedores amarillos específicos a tal efecto.

El vial utilizado (adherido al Phaseal) será destruido siguiendo los protocolos establecidos por el servicio de farmacia.

En caso de contaminación accidental, cada superficie contaminada deberá tratarse de acuerdo con los procedimientos hospitalarios convencionales para productos infectados. Todo el personal implicado en la manipulación del producto debe ser informado de que en caso de contaminación cutánea hay que lavar inmediatamente la piel profusamente con agua y desinfectar localmente con yodo al 4% y, en caso de contaminación ocular, se recomienda lavar y enjuagar únicamente con agua. Se debe realizar asimismo una evaluación por el oftalmólogo tan pronto como sea posible (<24h del accidente) No está proyectado ningún análisis biológico específico para el personal que maneje el producto.

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 25 de noviembre de 2016