



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DEL VIRUS *VACCINIA* MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/15)

Título del ensayo

Estudio de fase I/IIa de TG6002 (VV TK-RR-FCU1) administrado mediante infusiones intravenosas (i.v.) en combinación con flucitosina oral (5-fluorocitosina; 5-FC) en pacientes con carcinoma avanzado de tubo digestivo, de la empresa Transgene, S.A.

Organismo Modificado genéticamente (OMG)

TG6002 es un virus *Vaccinia* oncolítico replicativo obtenido a partir de la cepa Copenhague. Contiene tres modificaciones genéticas con respecto a la cepa Copenhague:

- 1) eliminación del gen viral de la timidina quinasa (TK)
- 2) eliminación del gen viral de la ribonucleótido reductasa (RR)
- 3) inserción del gen quimérico suicida *FCU1* de *Sacharomyces cerevisiae* en el locus de *TK*.

Los genes de *TK* y *RR* del virus *Vaccinia* se eliminaron para mejorar el tropismo natural del virus *Vaccinia* hacia las células cancerosas *in vivo*. El gen de *FCU1* codifica para la proteína FCU1 que convierte el profármaco 5-flucitosina (5-FC) en los agentes tóxicos quimioterapéuticos 5-fluorouracilo (5-FU) y 5-fluorouridina monofosfato (5-FUMP). TG6002 fue diseñado para presentar un modo de actuación con varios mecanismos, que incluyen la infección y la lisis selectiva de las células tumorales a través de la replicación viral directa y la quimioterapia selectiva mediante la conversión *in situ* de la 5-FC en 5-FU y 5-FUMP.

Características del ensayo

Los centros que participan en el ensayo clínico son:

- Centro Integral Oncológico Clara Campal (CIOCC) - Hospital Universitario HM Sanchinarro
- Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz

El número máximo de pacientes a incluir en el ensayo es de 59 sujetos. A cada uno de ellos se le administrarán como máximo tres dosis del tratamiento con TG6002, por lo que la cantidad máxima que se liberará corresponde a la contenida en 177 viales de producto (cada vial contiene 0,5 ml a una concentración de 2×10^8 pfu/mL).

La dosis máxima administrada sobre un paciente será de 3×10^8 ufc (u $8,5 \log_{10}$ ufc) por infusión i.v.

Se observará a los pacientes durante una noche en el entorno clínico y/u hospitalario tras la primera infusión y al menos 4 horas tras cada infusión.

Identificación de riesgos potenciales

Estabilidad



Los virus con ADN de doble hélice, como el virus *Vaccinia*, suelen presentar bajas tasas de mutación. Además, el gen de *FCUI* se insertó en el locus de *TK*, ubicado en el fragmento J altamente conservado del genoma del virus *Vaccinia*. La reversión de los virus TK^- a TK^+ , que se produce con frecuencia con mutaciones puntuales, es improbable cuando se realizan inserciones importantes en el cuerpo del gen de *TK*.

Por otra parte, se ha demostrado la estabilidad del virus recombinante tras 10 pases en CEF.

Patogenicidad

El virus *Vaccinia* se considera un patógeno menor para el ser humano. El virus *Vaccinia* tiene los antecedentes más longevos y amplios de uso en humanos. Tras la inyección en la piel, el virus suele provocar únicamente una infección subcutánea (SC) breve y limitada. De hecho, el VV no produce una infección latente y, una vez que la infección se presenta, se elimina rápidamente del huésped. El virus *Vaccinia* contiene antígenos que estimulan una respuesta inmune con reacción cruzada con los antígenos variólicos, por lo que la vacuna confiere protección frente a la viruela humana.

Las características replicativas y de propagación se han atenuado en TG6002 con la eliminación de los genes de *TK* y *RR*. De hecho, debido a la inactivación de las actividades TK y RR, la replicación del virus recombinante depende de las actividades TK y RR celulares, viéndose favorecida en células con altas tasas de división, como las cancerosas.

Genotoxicidad

El virus *Vaccinia* es un virus de tipo no integrativo, el ADN se replica en el citoplasma de la célula infectada. No existen referencias bibliográficas sobre la integración del VV en el genoma de la célula del huésped ni sobre acontecimientos asociados, como casos de mutagénesis por inserción y cáncer. No se espera que las modificaciones genéticas de TG6002 tengan impacto alguno sobre la incapacidad para la integración del virus parental.

Formación de virus recombinantes

Los humanos pueden actuar como huéspedes de otras especies de ortopoxvirus, como la viruela símica y la viruela vacuna. Sin embargo, la infección por estas especies en humanos debido a zoonosis es rara (solo se producen unos cuantos casos al año). Además, los ortopoxvirus presentan reacción y protección cruzada desde el punto de vista inmunológico, de modo que tras la infección con cualquier miembro de este género se obtiene protección frente a otros miembros del mismo. Además de este mecanismo de protección, se ha demostrado que la biología del virus *Vaccinia* es compleja e impide la coinfección de la misma célula por otro virus *Vaccinia*. Una vez producida la infección, las proteínas superficiales virales expresadas marcan la célula como infectada e impiden la entrada de otros viriones. Sin coinfección de la misma célula no hay riesgo de recombinación.

La infección en humanos también es posible con otros virus de la familia de los poxvirus (parapoxvirus, *Molluscum contagiosum* y virus tanapox). A excepción de *Molluscum contagiosum*, una infección específica de humanos, las infecciones por poxvirus en humanos aparecen por contacto con reservorios animales. Estas infecciones constituyen un riesgo profesional para las personas que trabajan con huéspedes con el reservorio infectado.

Debido a la falta de homología entre las diferentes familias de virus, la recombinación con otros genomas virales es improbable.



Transferencia génica

El ciclo de vida del virus *Vaccinia* tiene lugar exclusivamente en el citoplasma, por lo que la probabilidad de transmisión vertical es extraordinariamente baja. Como parte del estudio de biodistribución en conejos, se evaluó la distribución del ADN viral en los testículos y los ovarios. No se encontró ADN viral en las gónadas. A pesar de este hallazgo, se han implementado precauciones relacionadas con el contacto sexual en los pacientes que participen en el ensayo clínico con TG6002. Los pacientes deberán emplear un método anticonceptivo de barrera (p. ej., el preservativo para pacientes de sexo masculino o femenino o las parejas de los pacientes de sexo femenino) durante el periodo de tratamiento con TG6002 y un mínimo de 3 meses tras el último tratamiento con TG6002.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

El virus *Vaccinia* puede transmitirse al tocar el sitio de vacunación de una persona vacunada no curada, los vendajes o ropas contaminados con el virus vivo del sitio de vacunación, o las pústulas que aparecen espontáneamente. La contaminación se produce por contacto físico y puede provocar las mismas reacciones adversas que padece la persona vacunada. No existen datos que indiquen que hay una transmisión del virus *Vaccinia* a través del aire.

El virus parental de TG6002, es capaz de propagarse de manera eficaz entre células y de desplazarse hasta tejidos distantes a través del torrente sanguíneo. La inactivación de los genes de *TK* y *RR* en TG6002 no debería modificar las propiedades de infectividad del virus. Se demostró que afectaba a la replicación del virus, ya que la replicación de TG6002 se vio alterada en células normales, pero las células cancerosas mostraron valores similares a la replicación del virus parental. Así, tras un periodo inicial de amplia distribución a través de los tejidos, se espera que TG6002 desaparezca por completo del huésped, excepto en las células cancerosas.

La biodistribución del virus recombinante en animales sanos tras la administración sistémica repetida mostró una limitada difusión de TG6002 en la sangre y los órganos. Solo se detectó la presencia de ADN viral en sangre en un punto temporal (el día 2) y en un número limitado de muestras. En el caso de los órganos, se observó la presencia de ADN en el sitio de inyección, la piel distal al sitio de inyección y el bazo. El número de copias fue bajo y se redujo con el tiempo. Unas pocas muestras de orina presentaron valores positivos de ADN viral en un solo punto temporal, y el número de copias fue bajo. No se detectó ADN viral en heces en las condiciones del estudio.

Los datos de diseminación se obtuvieron previamente con TG1031 (cepa Copenhague con el gen de *TK* inactivado y presencia de las secuencias que codifican para MUC1 e IL2). TG1031 se administró a los pacientes por vía intramuscular en dosis de hasta 5×10^7 ufc. Las muestras de sangre, frotis nasofaríngeos, heces y orina recogidas en 21 de 56 pacientes presentaron valores negativos para los genomas virales en todos los puntos temporales (a diario durante la semana posterior a la inyección y posteriormente cada mes durante 6 meses).

En el ensayo clínico propuesto se llevará a cabo un monitoreo de la presencia de TG6002 en la sangre, la saliva, la orina y las heces, lo que ayudará a diseñar unas instrucciones adecuadas para evitar la diseminación del virus y la contaminación.

Mientras tanto, en el ensayo clínico propuesto se emplearán recomendaciones basadas en las de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU: para pacientes



vacunados con el virus *Vaccinia* no recombinante (no atenuado). Estas recomendaciones para evitar la diseminación del virus a otra persona incluyen el lavado frecuente de las manos con agua y jabón o agentes desinfectantes, el vendaje adecuado del sitio de administración (p. ej., con vendajes no oclusivos o una gasa y ropa de manga larga) y la eliminación adecuada de los vendajes contaminados (p. ej., las ropas y los paños contaminados deben descontaminarse con un lavado rutinario en agua caliente [≥ 71 °C] con detergente).

Para evitar la transmisión del virus a personas en riesgo de desarrollar reacciones adversas graves, los pacientes que estén en estrecho contacto físico con personas de los siguientes grupos no recibirán TG6002:

- Individuos gravemente inmunodeprimidos (p. ej., receptores de trasplantes de órganos, personas seropositivas o pacientes a los que se suministra un tratamiento crónico con inmunosupresores).
- Individuos con antecedentes de afecciones cutáneas inflamatorias (p. ej., eccemas o psoriasis que requieren tratamiento sistémico, etc.).
- Mujeres embarazadas
- Mujeres lactantes
- Niños < 12 meses

Durante los periodos de observación, el paciente permanecerá hospitalizado en una habitación privada con baño y aseo propios, siempre que sea posible. El acceso a la habitación del paciente quedará limitado al personal del estudio y la familia del paciente. Las personas que pertenezcan a "grupos de riesgo" (es decir, personas con antecedentes de trastornos cutáneos exfoliativos graves, personas inmunodeprimidas, mujeres embarazadas o en periodo de lactancia y niños < 12 meses de edad) no podrán entrar en la habitación del paciente. El personal del estudio que entre en la habitación del paciente estará equipado con guantes impermeables, bata, máscara quirúrgica/de trabajo y gafas de seguridad con protección lateral. Los familiares del paciente que entren en la habitación del paciente deberán usar una bata.

Por otro lado, se pedirá a los pacientes que empleen un método anticonceptivo de barrera y las pacientes de sexo femenino o las parejas femeninas de los pacientes de sexo masculino en edad fértil deben emplear un método anticonceptivo eficaz adicional (p. ej., uno de los siguientes: anticonceptivos hormonales, dispositivo intrauterino o sistema intrauterino de liberación de hormonas, o esterilización masculina).

Los investigadores, los farmacéuticos, el personal implicado en la manipulación de TG6002, los pacientes y sus familiares recibirán instrucciones detalladas para evitar la diseminación del virus, por lo que es poco probable que haya una contaminación entre el personal sanitario y el círculo familiar. En caso de producirse, y dado que solo una fracción de la dosis administrada participará en este acontecimiento, su efecto nocivo potencial debería ser similar al observado durante la campaña de vacunación antivariólica, que ha demostrado que la transmisión secundaria del virus *Vaccinia* es un fenómeno raro.

En caso de producirse la propagación del virus durante el ensayo clínico propuesto, el nivel de exposición previsto sería bajo en comparación con las dosis recibidas por los pacientes en el ensayo. Además, es probable que los individuos expuestos con edades superiores a los 40 años hayan sido inmunizados previamente con el virus *Vaccinia*. En el improbable caso de que los



individuos expuestos presentasen toxicidad asociada al virus, se puede iniciar un tratamiento con cidofovir o ribavirina para evitar riesgos para la salud pública.

El virus parental no tiene ningún huésped de mantenimiento en la naturaleza. El virus *Vaccinia* puede infectar a vertebrados de sangre caliente, como mamíferos, roedores y aves. No se han observado casos de infección en vertebrados de sangre fría, como peces, anfibios y reptiles.

Ya se ha observado la transmisión del virus *Vaccinia* de personas vacunadas contra la viruela a animales. También ha tenido lugar la transmisión del virus *Vaccinia* y otros ortopoxvirus de animales a humanos. Sin embargo, estas transmisiones son raras, ocurriendo únicamente unos pocos casos al año en todo el mundo. No se produjo un aumento de la incidencia de la transmisión tras la administración masiva durante la campaña de vacunación antivariólica ni tras la distribución manual o aérea de cebos de Raboral V-RG[®] (virus *Vaccinia* de la cepa Copenhague con inactivación de *TK* que expresa la glicoproteína G del virus rábico) en las campañas de vacunación antirrábica para la fauna. Además, la patogenicidad reducida de TG6002 debería aminorar cualquier posible transmisión entre humanos y entre humanos y animales.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Todas las zonas en las que se manipule y administre TG6002 a los pacientes y en las que los pacientes vayan a permanecer hospitalizados tras la administración serán de acceso restringido (es decir, el acceso a estas zonas estará controlado y limitado al personal autorizado del hospital que haya recibido formación relacionada con las medidas de control de la infección). En cada entrada a las zonas restringidas se colocará el símbolo internacional de peligro biológico. También se colocará en el congelador en el que se almacene TG6002.

La preparación de la infusión de TG6002 y los análisis de laboratorio de las muestras biológicas de los pacientes expuestos a TG6002 se realizarán en una cabina de seguridad microbiológica de clase 2. Todas las superficies de la cabina de seguridad microbiológica se limpiarán con un desinfectante activo antes y después de cada uso. Los virus con cápsula lipídica, como TG6002, son sensibles a numerosos desinfectantes químicos de uso hospitalario clásicos con lejía.

El transporte de TG6002 con la dosis a inyectar se realizará en una bolsa de transporte de plástico sellada u otros recipientes a prueba de fugas sellados con un símbolo de peligro biológico claramente marcado.

Se proporcionará una descripción técnica detallada a los investigadores, los farmacéuticos y todo el personal involucrado en la preparación y la manipulación del producto, mediante la entrega de la Hoja Técnica del producto y el Procedimiento de Preparación (Technical Sheet y Preparation Procedure). Estos documentos ofrecen información técnica, instrucciones para su manipulación y preparación, recomendaciones para la descontaminación y las condiciones y precauciones de uso.

Todo el personal implicado en la manipulación de TG6002 o cualquier material o ropa potencialmente contaminados con TG6002 deberá utilizar equipos de protección individual (EPI) (guantes impermeables, bata, máscara quirúrgica/de trabajo y gafas de seguridad con protección lateral).

En caso de exposición accidental, se deberá proceder a la descontaminación de la zona expuesta de acuerdo a lo recogido en la Hoja Técnica.



El material y el equipamiento contaminados con TG6002 (p. ej., viales usados y sin usar, bolsas/jeringas de infusión inyectadas y no inyectadas, catéteres, agujas, tubos, gasas, apósitos, guantes, batas desechables) deben desecharse siguiendo los procedimientos habituales del hospital para residuos infecciosos. En ambos centros, los residuos del medicamento en investigación se recogerán en contenedores especiales (Grupo III) marcados con una etiqueta que indica “Contenedor para residuos biológicos infecciosos, Contiene OMG” y serán destruidos por entidades acreditadas para este fin.

El material no desechable contaminado con TG6002 se limpiará/tratará conforme a los procedimientos habituales del hospital para material infeccioso (p. ej., lavado con agua caliente a ≥ 71 °C con detergente y secado con aire caliente). Todos los equipos de la cabina de bioseguridad no utilizados en el estudio se esterilizarán o limpiarán con un desinfectante activo (p. ej., una solución de lejía al 0,6 % de cloro activo o alcohol isopropílico al 70 %) antes de su uso para otros fines. Todos los productos sanitarios y equipos no críticos para el cuidado del paciente (p. ej., orinales, retretes, manguitos de presión sanguínea, oxímetros, medidores de glucosa) deberán limpiarse con un desinfectante hospitalario antes de ser utilizados con otros pacientes, según las precauciones universales/prácticas rutinarias. Elementos como los platos y utensilios se descontaminarán con agua caliente (≥ 71 °C) y detergente.

Las superficies de los consultorios, las salas de hospital y otras zonas destinadas al cuidado de los pacientes deben limpiarse regularmente con un desinfectante hospitalario. Tras el alta hospitalaria del paciente, todas las superficies de la habitación y el baño deben limpiarse con un desinfectante hospitalario.

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, 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 24 de septiembre de 2018