



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/18/28)

### **Título del ensayo**

Estudio de Fase III, abierto, randomizado y de grupos paralelos para evaluar la eficacia y la seguridad de la administración intrapleural de Interferón  $\alpha$ -2b Adenoviral (rAd-IFN) en combinación con Celecoxib y Gemcitabina en pacientes con Mesotelioma Pleural Maligno, de la empresa Trizell, Ltd.

### **Características del ensayo**

En España está previsto incluir a 60 pacientes como máximo. Cada paciente del grupo de tratamiento recibirá  $3 \times 10^{11}$  partículas víricas que se administrarán localmente en el espacio pleural (después de drenar el líquido del espacio intrapleural) a través de un catéter intrapleural o un dispositivo intrapleural similar.

En el ensayo participarán el Instituto Catalán de Oncología de L'Hospitalet, Hospital Universitari Quiron Dexeus Barcelona, Instituto Oncológico Dr. Rosell, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Hospital Universitario Madrid-Sanchinarro (Centro Integral Oncológico Clara Campal), Hospital Universitario 12 de Octubre, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Hospital Universitario Virgen de la Victoria y Hospital Universitario Central de Asturias.

Se obtendrán muestras de pacientes para analizar la diseminación viral dos veces en las 24 horas siguientes a la administración de rAd-IFN, semanalmente hasta 5 semanas después de la administración de rAd-IFN y al final del tratamiento en caso de tratamiento oncológico convencional. Se obtendrán muestras de orina, sangre, esputo, contenido del CIP *in situ* (si procede) e hisopado del lugar de acceso pleural.

### **Organismo modificado genéticamente (OMG)**

El OMG, rAd-IFN, es un adenovirus no replicativo derivado del Ad5 que expresa IFN  $\alpha$ 2b bajo el promotor/potenciador inmediato temprano del CMV, seguido de la secuencia TPL del adenovirus de tipo 2, que actúa como potenciador de la traducción. Esta casete de expresión reemplaza los genes E1a y E1b de Ad5 haciendo que el virus no sea replicativo.

Para la obtención del OMG se utiliza un vector plasmídico que contiene la secuencia codificante de IFN  $\alpha$ 2b humana, las secuencias Ad2 y las ITR de Ad5.

El rAd-IFN se genera por recombinación entre un plásmido que contiene IFN  $\alpha$ 2b y un derivado del adenovirus de tipo 5, que se cotransfectaron en células HEK 293. Durante la propagación del virus, las células hospedadoras HEK 293 suministran las proteínas E1 *en trans* necesarias para la replicación vírica.

### **Identificación y evaluación de riesgos potenciales**

#### **-Estabilidad**

El OMG, rAd-IFN, es un virus ADN de doble cadena, que se considera en general genéticamente estable. No se ha detectado variación de las secuencias al analizar distintos lotes.



### **-Adenovirus competentes para la replicación (ACR)**

En teoría, podría originarse adenovirus capaz de replicarse mediante la recombinación del ADN del OMG sin E1 con secuencias E1 complementarias en las células productoras HEK 293. La presencia de adenovirus competentes para la replicación se controla mediante ensayos de células A549 y la observación de la aparición de efecto citopático.

Se ha analizado el lote granel para la obtención del producto final y no se ha detectado la presencia de adenovirus competentes para la replicación, y que por tanto cumple con el criterio de aceptación establecido de  $< 1$  ACR en  $3 \times 10^{10}$  partículas virales, establecido por la FDA y aceptado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

### **-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 algodónera.

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 sea 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 silvestre 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.

No se han realizado estudios preclínicos con rAd-IFN administrado por vía intrapleural en ratones y ratas porque el IFN- $\alpha$ 2b humano no es biológicamente activo en no primates.

En estudios preclínicos en los que se administraron en la cavidad pleural o peritoneal vectores adenovirales con esqueletos similares a los del rAd-IFN en concentraciones superiores a la dosis humana equivalente prevista para el estudio propuesto, no se observaron distribución ni signos de diseminación de vectores adenovirales con y sin capacidad de replicación. Se concluye que el riesgo de distribución del rAd-IFN a zonas del cuerpo humano en las que podría producirse diseminación es mínimo.

El grado de diseminación está relacionado con la vía de administración. La exposición sistémica a vectores adenovirales puede ocasionar la diseminación (liberación) del virus a través de los líquidos corporales, como sangre, heces, orina, saliva y secreciones nasofaríngeas. El vector inhalado o administrado por vía nasal tiene un mayor riesgo de diseminación potencial de adenovirus sin capacidad de replicación (ASCR) y/o de adenovirus con capacidad de replicación (ACR). Existe un menor riesgo de diseminación viral a través de las secreciones nasofaríngeas, la orina, la piel o las heces cuando los vectores adenovirales se administran en zonas compartimentadas del organismo, como la cavidad intrapleural. 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 obtenidos en estudios clínicos indican que la diseminación es limitada.

En ensayos para el tratamiento del cáncer de vejiga sin invasión muscular en los que se administraba rAd-IFN, el análisis mediante PCR cuantitativa o un análisis de PCR similar, así como el análisis de cultivos celulares, no revelaron la presencia de adenovirus competentes para la replicación en las muestras de los pacientes. Aunque se detectó ADN del vector en las muestras de sangre, plasma o tejido de los pacientes, no se observó distribución a los posibles lugares de diseminación del vector a



partir de las secreciones nasofaríngeas, la orina o las heces. La excepción es la detección en la orina de adenovirus sin capacidad de replicación después de la instilación vesical.

Los datos indican que podría haber cierta diseminación local de bajo nivel de rAd-IFN en el líquido pleural o en el lugar del catéter durante la primera semana después de la infusión intrapleural en el estudio propuesto. Basándose en los procedimientos adecuados de manipulación de residuos biológicos, el riesgo de propagación de la infección, de haberlo, se considera insignificante. Teniendo en cuenta los datos clínicos sobre diseminación recopilados, se concluye que el rAd-IFN no distribuirá de manera significativa desde el lugar de administración pleural a los lugares donde podría producirse diseminación.

Los datos preclínicos y clínicos combinados indican que cuando se administra un vector adenoviral en zonas compartimentadas del organismo (es decir, cavidades intraperitoneal e intrapleural), no existe distribución a las secreciones nasofaríngeas, las heces ni la orina.

En el estudio propuesto, se analizará la diseminación viral a un subgrupo de pacientes aleatorizados al grupo de tratamiento con rAd-IFN.

Debido a la elevada prevalencia del virus Ad5 natural y a la presencia de inmunidad natural en la población humana en todo el mundo, no se recomiendan medidas de precaución adicionales a los pacientes que reciben rAd-IFN ni a sus cuidadores. Además, los pacientes abandonarán el hospital después de 24 horas, y se recomendarán los procedimientos de higiene normales.

### **Manipulación, control y tratamiento de residuos**

El almacenamiento y la preparación de la dosis se realizarán en los servicios de Farmacia de los hospitales que participan en el ensayo, que disponen de acceso restringido.

Los centros clínicos en los que vaya a llevarse a cabo el estudio serán evaluados exhaustivamente antes de la puesta en marcha del estudio para garantizar que las instalaciones sean suficientes para conservar y administrar el producto en investigación, y que dispongan de instalaciones apropiadas para la recogida, procesamiento y almacenamiento de muestras humanas. Todo el personal del centro clínico que intervenga en la manipulación o administración del producto en investigación recibirá formación según el protocolo del estudio y toda la documentación complementaria, incluidos los manuales de materiales del ensayo clínico y de laboratorio específicos para el estudio.

Para la preparación de la dosis, se diluye un solo vial de rAd-IFN $\alpha$ 2b concentrado en condiciones de asepsia usando procedimientos de contención de clase II apropiados, por ejemplo, cabina de bioseguridad de clase II.

Todo el personal que trabaje en las instalaciones utilizará equipo de protección personal (bata de laboratorio, delantal, gafas de seguridad y guantes desechables) con arreglo al manual de manipulación y administración del PEI. Cuando sea necesario manipular el producto fuera de la cabina de seguridad biológica, deberá usarse protección facial (p. ej., gafas protectoras, máscara, pantalla facial u otro protector contra salpicaduras).

Las instrucciones para la obtención, el procesamiento y el transporte de las muestras clínicas se facilitan en un manual de laboratorio. El transporte de todos los líquidos corporales o material inyectable se realizará en un recipiente secundario sellado (p. ej., una bolsa de plástico sellada) a prueba de fugas.



Si alguno de los viales de rAd-IFN está dañado o se considera inutilizable, el producto deberá desecharse en un recipiente para residuos con riesgo biológico para su incineración. Todo producto en investigación no utilizado se eliminará en el centro clínico como residuos médicos infecciosos.

Las superficies de trabajo deben descontaminarse con un desinfectante aprobado.

La ropa de cama del paciente se tratará de acuerdo con los procedimientos utilizados para la ropa sucia con sangre o líquidos corporales.

Las muestras de los pacientes serán analizadas en distintos laboratorios<sup>i</sup> a los que serán transportadas de forma segura para evitar derrames accidentales.

**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 7 de junio de 2019

---

<sup>i</sup> **Los laboratorios en los que se analicen muestras clínicas de pacientes deben cumplir, como mínimo, con los requisitos del nivel de bioseguridad 2.**

Documentos de apoyo:

- Manual de seguridad en el laboratorio de la OMS. 2005
- Guía Técnica para la evaluación y la prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo. 2014
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo
- Real Decreto 178/2004, del 3 de enero