



## EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS VACCINIA MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/19/03)

### **Título del ensayo**

Ensayo fase I/II aleatorizado de vacuna terapéutica contra el VIH en individuos que iniciaron el tratamiento antirretroviral durante una infección primaria o crónica (EHVA T01/ANRS VRI05), del Inserm-ANRS (French National Institute for Health and Medical Research-ANRS (France Recherche Nord & Sud Sida-hiv Hépaties)).

### **Características del ensayo**

El objetivo principal del ensayo clínico será evaluar el impacto de la vacunación con el OMG, MVATG17401 o MVA HIV-B, junto con una vacuna terapéutica contra el VIH basada en ADN, GTU-MultiVIH B (consiste en un plásmido de ADN que codifica una proteína de fusión sintética formada por polipéptidos de longitud completa Rev, Nef, Tat, p17 y p24 con epítopos CTL específicos de proteasa, transcriptasa inversa (RT) y regiones gp160 derivadas de HAN2 de la cepa VIH-1 subtipo B), y/o un anticuerpo monoclonal, vedolizumab sobre el control viral después de la interrupción del tratamiento analítico.

En el ensayo existen dos brazos que combinan dos o tres productos; por un lado uno de los brazos combinará el OMG MVATG17401, el producto GTU-Multi-VIH B-clade (ADN plasmídico disuelto una solución estéril de cloruro de sodio tamponada con fosfato) y vedolizumab (un anticuerpo monoclonal con el fin de aumentar la respuesta de las células T antivirales, mejorar la capacidad de eliminar el reservorio viral y preservar las células T CD4+ en el tracto gastrointestinal), mientras que el segundo brazo combinará MVATG17401 y GTU-Multi-VIH B-clade.

En el ensayo clínico participará el Hospital Clinic de Barcelona. La vacuna será administrada por vía intramuscular a una dosis de  $5 \times 10^7$  pfu. El número de pacientes que se incluirán en este estudio se estima en 88-192 individuos de 6 países europeos (16-20 individuos en España). Los participantes serán seguidos desde la visita de selección (hasta 6 meses antes de la inscripción) hasta la última visita, un máximo de 66 semanas (alrededor de 15 meses).

A lo largo del estudio se analizarán muestras de sangre para las determinaciones de respuesta inmune y para saber si el VIH se está replicando. No está previsto el análisis de la presencia del OMG.

### **Características del organismo modificado genéticamente (OMG)**

El OMG, MVATG17401 o MVA HIV-B es un virus Vaccinia Ankara modificado (MVA) que contiene los genes *gag*, *pol* y *nef* del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 (VIH-1) insertado en la región III de MVA.

El MVA es una cepa atenuada del virus vaccinia utilizado clásicamente para la campaña de vacunación contra la viruela en los años 60.

El MVA deriva de la cepa inicial del virus vaccinia de tipo salvaje denominada virus dermovaccinia Ankara (CVA) del burro. Su genoma está compuesto por una única molécula de ADN lineal de doble hebra y se replica en el citoplasma de las células. El genoma de MVA presenta seis deleciones principales que dan como resultado la pérdida de 30 kb o aproximadamente el 16% de su información genética, incluidos al menos dos genes de rango de huésped.

Para la generación de MVATG17401 se usó un plásmido de transferencia que contiene la casete de expresión *gag-pol-nef* de VIH entre dos regiones del MVA y un marcador de selección.



La secuencia de nucleótidos de Gag se ha optimizado para limitar el riesgo de mutación durante la síntesis de la proteína y, por lo tanto, garantizar la síntesis de una proteína funcional con el peso molecular esperado.

El objetivo de la expresión de la poliproteína GAG-POL-NEF es la de generar una respuesta inmune para poder controlar la replicación viral y obtener una llamada "cura funcional".

MVATG17401 se generó por recombinación homóloga entre el plásmido de transferencia y el un subclon de MVA, para lo cual se infectaron células de embrión de pollo (CEF) a las que posteriormente se les transfirió el plásmido.

### **Identificación de riesgos potenciales**

#### **Estabilidad**

No se ha observado modificaciones de la secuencia de lote semilla tras realizar mapeo enzimático y secuenciación de la región codificante del inserto, región no codificante del inserto genético, 100 pb corriente arriba y corriente abajo de la región de delección II de la cepa MVA, 100 pb corriente arriba y corriente abajo de la región de delección III de la cepa MVA.

#### **Patogenicidad**

La cepa MVA se obtuvo después de 570 pases del CVA de asno en células CEF. Las delecciones que ocurrieron durante los primeros 382 pasajes llevaron a un fenotipo atenuado similar al de la cepa MVA. Las delecciones que ocurren durante los siguientes 190 pasajes no parecen resultar en una mayor atenuación del virus.

El MVA crece bien en las células aviares, pero no puede multiplicarse en humanos u otras células de mamífero. En células humanas y de otros mamíferos, el virus replica su ADN, tiene una expresión intacta de los genes tempranos e intermedios, así como la mayoría de los genes tardíos, pero tiene un bloqueo en la etapa de ensamblaje del virión y, por lo tanto, no puede producir progenie infecciosa. La mayoría de las cepas de MVA producen una infección abortiva en huéspedes animales y se ha demostrado que no son patógenas incluso en animales y humanos inmunodeprimidos.

Las modificaciones introducidas no afectan a la patogenicidad del OMG que sigue siendo no patógeno para el ser humano.

Además, MVA se replica en el citoplasma lo que limita el riesgo de integración en el genoma de las células huésped y esta característica no se altera en el OMG.

#### **Generación de virus recombinantes**

El MVA no se encuentra en el medio ambiente, por lo que no existe peligro de recombinación con el virus de tipo salvaje en el medio ambiente.

MVA está altamente atenuado debido a seis delecciones principales en su ADN, presentes también en el OMG. Se requeriría la reparación de múltiples genes para restaurar completamente la capacidad de MVA para replicarse de manera eficiente en células humanas, por lo que se considera que el riesgo es despreciable.

#### **Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación**

Este OMG ha sido previamente liberado en voluntarios sanos junto con la combinación de productos propuesta para el ensayo clínico que se pretende realizar, no se han realizado estudios sobre la eliminación del OMG en muestras de pacientes ni se van a realizar en este ensayo.



MVATG17401 es deficiente para la replicación, por lo que no se prevé que sea capaz de colonizar ningún organismo diferente a los sujetos que participen en el ensayo clínico propuesto. La modificación genética no modifica el tropismo del virus.

El OMG podría diseminarse al tocar el sitio de vacunación o los apósitos contaminados que se utilizan para cubrir el lugar de administración o al tocar las pústulas cutáneas de aparición espontánea antes de su sanación. También podría propagarse a través de cualquier fluido biológico contaminado del paciente. El personal implicado en la manipulación, 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 o los familiares del paciente. Estas recomendaciones se recogen en el documento “Nota al paciente y sus familiares”. En caso de producirse, la dosis sería mucho más baja de la administrada por lo que su posible efecto debería ser similar al observado durante la campaña de vacunación anti-viruela, que ha demostrado que la transmisión secundaria del MVA es un fenómeno raro.

Se ha analizado el riesgo de transmisión vertical en animales de un OMG similar, MVA que expresa gag p24/p17 del VIH-1. En ratones, se evaluó la distribución del ADN viral en los testículos y los ovarios. No se encontró ADN viral en las gónadas. En otro estudio en monos rhesus, después de la administración intradérmica MVA.VIHA no se detectó ADN en los testículos, epidídimo, y ovario.

MVATG17401 será administrado por vía intramuscular a una dosis de  $5 \times 10^7$  pfu. Aunque la ruta de administración es diferente respecto a estos estudios preclínicos, se espera un tropismo similar. 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 MVATG17401 y un tiempo posterior.

### **Interacción con el ADN**

No se espera una interacción entre los componentes del ensayo clínico ya que después de la inyección de un plásmido de ADN en un animal, solo una pequeña proporción de las moléculas de ADN entran en las células, y las que penetran permanecen de forma extracromosómica. El OMG se encuentra exclusivamente en el citoplasma de la célula por lo que la probabilidad de interacción entre el plásmido y el OMG es mínima. No obstante, en el caso remoto de que el OMG y el plásmido se encontraran en el citoplasma de la célula, el posible evento de recombinación no supondría un riesgo. La homología entre el ADN plasmídico y el ADN genómico del MVATG17401 es limitada, excepto por la secuencia *Nef*. Si se produjera dicha recombinación no se originaría un OMG más patógeno, debido a la característica no replicativa del OMG y cualquier secuencia genética adquirida no se transmitirá a OMG descendentes y tampoco se revertiría en ningún caso el fenotipo MVA original. Tras la administración intramuscular e intradérmica del plásmido en estudios preclínicos su persistencia en el organismo es de 28 días aproximadamente. Las dos vacunas se administran con varias semanas de diferencia (8 semanas), por lo que para cuando se administra el OMG no se espera presencia de plásmido en el organismo. Además, se considera que la interacción entre el OMG y el anticuerpo monoclonal es nula o despreciable, ya que este último solo interaccionaría con su epítipo correspondiente (una proteína que se encuentra principalmente en la superficie de ciertos glóbulos blancos en el intestino).

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

El personal implicado en la manipulación, los pacientes y sus familiares recibirán instrucciones detalladas para evitar la diseminación del virus.



La vacuna MVA se manejará con cuidado durante el envío (según lo estipulado en el Acuerdo sobre el transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera, condiciones UN3245 para OMG), almacenamiento y administración para evitar cualquier contaminación ambiental.

La preparación de las vacunas se realizará en el Servicio de Farmacia del Hospital Clinic que es un laboratorio que cumple con los criterios para un laboratorio BSL-1. En el documento se indica que se puede realizar en campana de bioseguridad de clase II o, en caso contrario, se utilizarán un par de guantes, gafas protectoras y que se evite purgar la jeringa fuera del vial para evitar proyecciones.

Todas las superficies se limpiarán con spray desinfectante Aniospray® y alcohol de 70° antes y después del proceso en cumplimiento adecuado a la preparación de inyectables. La suspensión de virus se transferirá a una jeringa de 1 ml en condiciones asépticas. Una vez la suspensión ha sido transferida a las jeringas de administración, se trasladarán a la consulta de administración colocando estas jeringas en una bolsa zip-lock cerrada en contenedores cerrados. El lugar de inoculación de la vacuna se cubre apropiadamente tras la administración con un apósito. El personal que administrará el producto a los pacientes utilizará precauciones universales, es decir, uso de batas y guantes desechables, así como desechará el material contaminado inmediatamente después de la administración de acuerdo a la gestión de residuos sanitarios grupo III.

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 a 14 de mayo 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.**

Documento 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.