



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DEL VIRUS VACCINIA MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/24/16)

Título del ensayo

Ensayo aleatorizado en fase I/II en pacientes con carcinoma epidermoide de cabeza y cuello (CECC) negativo para VPH, locorregionalmente avanzado y recién diagnosticado, en el que se evalúa una inmunoterapia activa dirigida al mutanoma, iniciada al finalizar el tratamiento primario o en el momento de la recidiva, del promotor Transgene.

Organismo modificado genéticamente (OMG)

El OMG, TG4050, es un virus vaccinia modificado de Ankara (MVA) que contiene transgenes insertados que codifican neoantígenos específicos del tumor del paciente.

Los transgenes de neoantígenos específicos del paciente deben desencadenar el desarrollo de una respuesta inmunitaria celular específica, lo que da como resultado la proliferación y activación de linfocitos T citotóxicos que eliminarán las células tumorales que albergan estos neoantígenos.

Organismo receptor

El MVA no es un patógeno humano, se desarrolló originariamente en la década de 1970 como una vacuna contra la viruela.

El análisis estructural del genoma del MVA revela 6 eliminaciones principales que resultan en la pérdida de 30 kb o alrededor del 16 % de su información genética, incluidos al menos 2 genes de la gama de huéspedes.

La cepa MVA es una cepa de laboratorio que no se encuentra de forma natural en el medio ambiente. El MVA es una cepa de multiplicación defectuosa atenuada incapaz de producir la progenie del virus. Numerosos estudios han documentado que el MVA se propaga mal en todas las líneas celulares continuas humanas analizadas y no se propaga en fibroblastos humanos primarios o en células mononucleares primarias de sangre periférica (CMSP), células dendríticas y monocitos. También se ha demostrado en macrófagos primarios que el virus de la vaccinia de tipo salvaje se bloquea en varias fases tardías de la infección vírica, incluida la replicación del ADN vírico y la producción de viriones de progenie infecciosa. Por lo tanto, es probable que el MVA también sea defectuoso en estas fases de su ciclo de vida vírica en este tipo de células.

Modificación genética

El vector clínico, TG4050, se genera mediante la recombinación homóloga entre el plásmido de transferencia que porta los epítomos específicos del paciente flanqueados por secuencias de MVA que rodean la eliminación III y una cepa parental de MVA, en fibroblastos de embriones de pollos (FEP).

La recombinación homóloga se facilita mediante el uso de dos plásmidos de edición que expresan Cas9 y un RNA guía.



Características del ensayo clínico

TG4050 se administrará por vía subcutánea. Los pacientes recibirán inyecciones de TG4050 a una dosis de 1×10^8 UFP cada semana durante las primeras 6 semanas y, a continuación, cada 3 semanas.

El ensayo se realizará en el Hospital Clínico San Carlos, el Hospital Universitario La Paz, el Hospital Universitari Vall d'Hebron, el Institut Català d'Oncologia - Hospital Duran i Reynals (ICO L'Hospitalet), el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago (CHUS) y el Hospital Regional Universitario de Málaga - Hospital Civil.

Evaluación del riesgo

-Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación.

TG4050 no es capaz de multiplicarse en la mayoría de las células de mamíferos. Aunque el riesgo de reconversión al tipo salvaje puede considerarse insignificante, algunos de los genes alterados o eliminados en teoría podrían rescatarse mediante recombinación en caso de coinfección de una vacuna basada en el MVA y un ortopoxvirus natural. Sin embargo, tal evento se considera muy raro. Además, se prevé que la retromutación del MVA a un fenotipo capaz de multiplicarse sea muy improbable porque la restricción y la atenuación de la multiplicación del MVA se basa con mucha probabilidad en una multitud de productos génicos faltantes o solo funcionales de manera parcial.

-Estabilidad

Toda la región codificante central del genoma del MVA a partir del que se obtienen TG4050, se ha secuenciado encontrándose una homología del 99,9 % con la secuencia publicada en GenBank correspondiente a la primera secuenciación de ADN llevada a cabo en el aislado MVA-IMMUNO AG (Biomedical Research Center, Hyland-Immuno, Orth/Donau, Austria) (GenBank/U94848). Además, se descubrió que la secuencia era 100 % homólogo a la última secuencia publicada en Genbank del segundo aislado (descrito por Baxter Vaccines AG y preparado por Acambis Inc.) (GenBank AY603355). Estos datos respaldan la estabilidad genética de MVA.

Como el TG4050 es un producto personalizado, no es posible evaluar la estabilidad genética de cada constructo de vector específico del paciente a lo largo del proceso de producción.

Dos pruebas de liberación llevadas a cabo en cada lote de producto TG4050 demuestran su perfil genético correcto. Estas pruebas son:

- La secuenciación del fragmento de inserción para el que se requiere una identidad del 100 % con la secuencia de referencia.
- La traducción de la secuencia de nucleótidos en la secuencia de aminoácidos para la que se requiere una identidad del 100 % con la secuencia de referencia.

-Potencial de recombinación con el virus parental *in vivo*

La probabilidad de reversión del VMA es insignificante por los siguientes motivos:

(i) Para que se produzca la recombinación homóloga, se requiere la colocalización en la misma célula infectada con un ortopoxvirus; la probabilidad de este evento es muy baja en el contexto del ensayo clínico propuesto.



(ii) El extenso proceso de atenuación (>500 pases sucesivos de cultivo celular) ha dado como resultado la pérdida de alrededor del 15 % (aproximadamente 30 Kb) del genoma y no se conoce ningún poxvirus capaz de complementar el MVA para generar un virus capaz de multiplicarse. Nunca se ha documentado la reversión espontánea del MVA al virus silvestre capaz de multiplicarse, a pesar del uso extensivo del MVA como vector vírico.

(iii) El MVA es un virus no integrativo, después de la infección de la célula huésped humana específica, permanece exclusivamente en el citoplasma.

(iv) Los segmentos transgénicos en el vector clínico no pueden revertir el genotipo incapaz de multiplicarse del vector del MVA.

-Biodistribución y excreción

El promotor ha acumulado datos clínicos de biodistribución y excreción de pacientes tratados con genoterapias basadas en el MVA (es decir productos de genoterapia que utilizan la misma secuencia troncal vírica del MVA con otro transgén insertado distinto al de TG4050).

Estos pacientes recibieron administraciones repetidas de genoterapias basadas en el MVA por vía intramuscular o subcutánea a dosis de hasta 1×10^8 UFP. Se supervisó a los participantes mediante PCR para establecer la excreción vírica en la sangre y la orina en diferentes momentos. No se detectó ADN vírico en las muestras de sangre u orina de ningún participante.

Para evaluar el posible riesgo de cualquier diseminación a los trabajadores sanitarios y los miembros de la familia, se llevó a cabo un estudio de excreción adicional para investigar la presencia de ADN vírico en el lugar de la inyección. El hisopado del lugar de la inyección se llevó a cabo en los pacientes antes de la primera inyección, 6 horas después de la primera inyección y en momentos posteriores. Varios días después de la administración (de 8 a 15 días), solo se detectaron trazas del ADN vírico.

En general, estos datos confirman que la diseminación de productos de genoterapia basados en el MVA como el TG4050 se limita al lugar de la inyección después de la administración local (por ejemplo, intramuscular o subcutánea). Esto concuerda con las características del MVA de ser un virus no propagativo, no integrativo y poco replicativo.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

La hoja de seguridad, el Procedimiento de preparación y el Procedimiento de administración proporcionan información técnica relacionada con los lotes clínicos de TG4050, las condiciones y precauciones de uso, los procedimientos de preparación y administración, las recomendaciones de limpieza y descontaminación, la gestión de residuos y las declaraciones en caso de incidente.

El lugar en el que se almacene el producto en investigación tendrá acceso restringido. La descongelación es la única operación de reconstitución aplicada al TG4050 como parte de su procedimiento de preparación.

La jeringa que contiene la dosis de TG4050 se transporta hasta la zona de administración dentro de una bolsa a prueba de fugas que contiene un empapador marcado con el símbolo de riesgo biológico.

Durante todas las manipulaciones de las dosis de TG4050, debe utilizarse bata de laboratorio, gafas, guantes y mascarilla.

El material desechable contaminado por TG4050 debe eliminarse de acuerdo con los requisitos el procedimiento hospitalario habitual para residuos infecciosos.



El material no desechable contaminado por TG4050, p. ej.: bata de laboratorio, gafas, bata de paciente, ropa de cama, sábanas, toallas, etc., debe limpiarse y tratarse de acuerdo con el procedimiento hospitalario habitual para materiales infecciosos (p. ej., lavado con agua caliente ≥ 71 °C con detergente y secado con aire caliente).

Las superficies, la habitación del hospital, el baño, el inodoro y el equipo de atención del participante se limpiarán de forma rutinaria con un desinfectante de grado hospitalario. Después de que se le dé el alta al participante, todas las superficies de la habitación, el baño y el inodoro se limpiarán con un desinfectante de grado hospitalario. Los objetos como platos, utensilios, textiles y telas se descontaminan con agua caliente ($>70^{\circ}\text{C}$) y detergente. Todos los residuos que pudieran estar contaminados se colocarán en recipientes rígidos por personal capacitado para eliminar los residuos de riesgo biológico y se desecharán como material infeccioso.

Para evitar la diseminación, se colocará un apósito en el lugar de la inyección después de cada inyección antes de que el paciente reciba el alta, ya que el lugar de la inyección se identifica como la principal fuente posible de diseminación desde el paciente tras la administración subcutánea. Debe mantenerse durante 6 horas después de cada inyección. Una vez retirado, el apósito deberá colocarse en una pequeña bolsa de plástico impermeable provista, marcada con el símbolo de «riesgo biológico», que deberá devolverse al servicio en la siguiente visita.

No hay recomendaciones para los participantes en el ensayo clínico destinadas a prevenir la diseminación, ya que no se prevé que exista excreción vírica. Sin embargo, para evitar cualquier posible exposición y transmisión vertical en caso de embarazo, se pide a las participantes que presenten un resultado negativo en una prueba de embarazo al inicio del ensayo, usen un método anticonceptivo muy eficaz y a los varones el uso de preservativo.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

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.

La CNB recuerda que siempre que se manipulen muestras de pacientes se deben aplicar medidas de bioseguridad para riesgo tipo 2 (NCB-2 o BSL-2).

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 julio 2024