



## **EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE ADENOVIRUS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE Y VIRUS VACCINIA MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/21/21)**

### **Título del ensayo**

Estudio abierto, multicéntrico de fase I/IIa de la vacuna genética Nous-209 para el tratamiento de tumores sólidos con inestabilidad de microsatélites, del promotor Nouscom Srl.

### **Características del ensayo**

El promotor propone un período para la liberación desde octubre de 2021 hasta junio de 2024.

En el ensayo participarán el Hospital Clínico de Barcelona, Hospital Clínico Universitario de Valencia, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y el HM Sanchinarro Centro Integral Oncológico Clara Campal.

GAd20-209-FSP se utiliza como vacuna de cebado, seguida de administraciones de MVA-209-FSP como refuerzo.

### **Características del organismo modificado genéticamente**

El medicamento en investigación, Nous-209, consiste en dos OMG, GAd20-209-FSP y MVA-209-FSP.

-GAd20-209-FSP consiste en una mezcla de cuatro vectores, GAd20-209-FSP-A1, GAd20-209-FSP-A2, GAd20-209-FSP-A3 y GAd20-209-FSP-A4, cada uno de ellos derivado de un vector adenoviral sin capacidad para la replicación (GAd20).

GAd20 deriva de un adenovirus de tipo salvaje aislado de una muestra de heces de un animal sano alojado en el zoológico de Bristol, Reino Unido. El genoma viral se clonó en un vector plasmídico de Cromosoma Artificial Bacteriano (BAC) y posteriormente se modificó para que llevara las siguientes modificaciones:

- delección de la región E1 (del pb 461 al pb 3.402) del genoma viral;
- delección de la región E3 (del pb 28.469 al pb 31.993) del genoma viral;
- delección de la región E4 (del pb 34.094 al pb 36.800) del genoma viral;
- inserción del marco de lectura abierto 6 de la E4 (E4orf6) derivado del Ad5 humano (del pb 33.179 al pb 34.088).

Posteriormente, para generar los cuatro vectores de GAd20 presentes en la vacuna, se clonaron en el genoma del vector viral cuatro transgenes diferentes, denominados FSP-A1, FSP-A2, FSP-A3 y FSP-A4, como casetes de expresión bajo el control del promotor del CMV humano.

Cada transgén codifica una cadena de péptidos de cambio del marco de lectura (FSP) seleccionados entre los más observados habitualmente en pacientes con cáncer colorrectal, gástrico y endometrial MSI (inestabilidad de microsatélites), para un total de 209 FSP y 6021 aminoácidos:

- FSP-A1 contiene FSP del 1 al 45
- FSP-A2 contiene FSP del 46 al 99



- FSP-A3 contiene FSP del 100 al 158
- FSP-A4 contiene FSP del 159 al 209

-MVA-209-FSP consiste en una mezcla de cuatro vectores, MVA-209-FSP-B1, MVA-209-FSP-B2, MVA-209-FSP-B3 y MVA-209-FSP-B4, cada uno de los cuales se deriva del virus de la viruela vacunoide de Ankara modificado (MVA).

El virus parental MVA se atenuó mediante más de 570 pases en CEF. La cepa resultante seleccionada perdió más de 30 kb de genoma que correspondían a varios genes, lo que afectó a su capacidad de eludir la inmunidad y restringió su gama de organismos hospedadores.

Cada uno de los cuatro vectores MVA presentes en la vacuna codifica un transgén sintético, denominado FSP-B1, FSP-B2, FSP-B3 y FSP-B4 respectivamente. Cada transgén codifica una cadena de péptidos de cambio del marco de lectura (FSP), que son las mismas que en el OMG GAd20-209-FSP.

### **Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.**

#### **-Ausencia de formación de virus competentes para la replicación (RCV).**

##### GAd20-209-FSP

Los vectores GAd20 son incompetentes para la replicación debido a la delección de toda la región viral E1. Para permitir la replicación de los vectores virales durante las etapas de rescate y amplificación, las funciones E1 son suministradas *en trans* por las células M9.S, portadoras de la región E1 del Ad5 humano.

La reversión a un virus competente para la replicación a través de la reconstitución de una región E1 totalmente funcional en el genoma de GAd20 requeriría dos eventos de recombinación homóloga, que implicarían las regiones a ambos lados del E1 del genoma del vector GAd20 y las secuencias hAd5 integradas en el genoma de las células M9.S. Tal evento se considera improbable dada la limitada homología de estas secuencias. A pesar de ello, se realiza un ensayo de citotoxicidad *in vitro* para detectar virus competentes en replicación.

No se han detectado RCV en distintas fases de fabricación analizadas.

##### MVA-209-FSP

El vector MVA no es capaz de replicarse en los mamíferos debido a una delección de unos 30 kb, originada durante el proceso de atenuación. Se considera extremadamente improbable que el MVA pueda readquirir esta secuencia.

#### **-Estabilidad**

##### GAd20-209-FSP

La estabilidad genética de GAd20-209-FSP se verifica mediante NGS (secuenciación de próxima generación) en cada una de las cuatro sustancias medicinales antes de mezclarlas para generar el producto final GAd20-209-FSP. Se han obtenido resultados conforme a la secuencia de referencia.

##### MVA-209-FSP



La estabilidad genética de MVA-209-FSP se verifica mediante la secuenciación del transgén en cada una de las cuatro sustancias medicinales antes de mezclarlas para generar el producto final MVA-209-FSP. La secuencia obtenida ha sido conforme a la de referencia.

### **-Potencial de recombinación con el virus parental *in vivo* y descripción de posibles recombinantes.**

#### GAd20-209-FSP

GAd20-209-FSP y MVA-209-FSP no pueden replicarse fuera de las células permisivas de laboratorio. Se ha demostrado que la vía de administración intramuscular de virus similares no está asociada a la excreción y que los prototipos de GAd20-209-FSP y MVA-209-FSP no están asociados a la distribución de tejidos alejados del lugar de la inyección en ratas. La posible recombinación entre las secuencias del vector viral y las secuencias del adenovirus humano se considera insignificante. No se espera ninguna homología de los antígenos de GAd20-209-FSP y MVA-209-FSP con las secuencias humanas. Los epítomos humanos clonados son neoantígenos que sólo se encuentran en los tumores y son específicos para cada paciente. No hay homología entre el vector y secuencias humanas.

En el ensayo clínico propuesto, GAd20-209-FSP se utiliza como vacuna de cebado, seguida de administraciones de MVA-209-FSP como refuerzo. En estudios anteriores con vectores similares no se han observado interacciones farmacodinámicas distintas de las intrínsecas al hecho de ser un preparado-refuerzo de la vacuna completa. Además, hay que excluir diferentes tipos de interacciones, como la recombinación, teniendo en cuenta el tiempo de persistencia y la localización del primer OMG administrado (GAd20-209-FSP) y los del segundo OMG administrado (MVA-209-FSP). Además de eso, hay que considerar que los vectores no presentan homología de secuencia y el resultado de un potencial evento de recombinación, que podría involucrar solamente los insertos, no sería peligroso, ya que podría resultar solamente en una reordenación diferente de los FSP presentes en los insertos de los OMG. Incluso la producción de OMG recombinantes no sería peligrosa, sino sólo potencialmente ineficaz para potenciar la respuesta inmunitaria contra el tumor.

En el ensayo propuesto, el anticuerpo anti-PD1 pembrolizumab se administrará como producto auxiliar. No se esperan interacciones farmacodinámicas entre el producto auxiliar y los OMG, en base a datos no clínicos.

### **-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).**

No hay experiencia farmacológica previa en humanos con GAd20-209-FSP y MVA-209-FSP por lo que no se dispone de datos sobre la excreción y la biodistribución en humanos. Sin embargo, varios estudios clínicos realizados con vectores muy similares, así como los resultados no clínicos con los mismos vectores del estudio, muestran una persistencia limitada del OMG en el lugar de la inyección o en los ganglios linfáticos regionales cuando el vector es administrado por vía intramuscular, y ninguna persistencia en otros tejidos corporales.

En la mayoría de los estudios no se detectó la liberación del virus en muestras biológicas (esputo, saliva, orina, excrementos) en ningún momento o a los pocos días de la administración.

Los datos con un adenovirus no humano similar (ChAd3 derivado de chimpancés), pero que expresa los genes del virus de la hepatitis C, muestran que no se observa presencia del vector viral en orina e hisopos orales después de la administración intramuscular. Otras cepas de adenovirus no mostraron diseminación en hisopos faríngeos, rectales y nasales, así como en muestras de orina y sangre durante los estudios clínicos.



En un estudio de fase I con un MVA que expresaba MUC1 humano, las muestras de orina recogidas 4 horas y 8 días después de la inyección fueron negativas para la presencia de secuencias del vector.

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

Se deberá utilizar protección para los ojos, guantes y bata de laboratorio durante la manipulación de los OMG.

Si las jeringas que contienen el medicamento en investigación han de trasladarse al lugar de administración se realizará en recipientes resistentes para prevenir derrames accidentales.

Los pacientes tratados tendrán el lugar de la inyección (región deltoidea de la parte superior del brazo) cubierto con un vendaje durante 30 minutos, y luego el vendaje se eliminará como residuo de material de riesgo biológico. Se pedirá a los pacientes que no toquen el lugar de la inyección y, si lo hacen, que se laven las manos.

Las muestras biológicas serán manipuladas y almacenadas en el centro de acuerdo con los procedimientos apropiados de riesgo biológico y las instrucciones proporcionadas por Nouscom en los Manuales de Laboratorio que serán enviados a cada centro.

Los residuos y restos del medicamento en investigación se eliminarán como residuos biopeligrosos de acuerdo con los procedimientos de los centros hospitalarios.

**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.

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). 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 7 de diciembre de 2021