



**EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE  
DE VIRUS ADENOASOCIADOS Y UN VIRUS VACCINA (MVA) MODIFICADO  
GENÉTICAMENTE  
(Notificación B/ES/20/15)**

**Título del ensayo**

Ensayo de fase Ib multicéntrico, en abierto, no aleatorizado, de confirmación de dosis y con ampliación de cohortes para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la actividad antitumoral de Nous-PEV, administrada junto con pembrolizumab, en pacientes afectados de melanoma cutáneo irreseccable en estadio III/IV y CPNM en estadio IV (PD-L1  $\geq$  50 %), de la empresa Nouscom Srl.

**Características del ensayo**

El promotor propone el inicio del ensayo en octubre 2020 y la finalización en octubre 2023.

Participarán 28 pacientes, ampliable hasta un máximo de 34. La administración será intramuscular.

La dosis de GAd-PEV será de  $1 \times 10^{11}$  pv. El GAd-PEV se administrará una sola vez como primovacunación de la vacuna candidata Nous-PEV. La dosis de MAV-PEV que se administrará es de  $1-3 \times 10^8$  uif.

En el ensayo participarán el Instituto de Investigación Sanitaria (INCLIVA)-Hospital Clínico Universitario de Valencia, el Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, el CIOCC-Hospital Universitario HM Sanchinarro, y el Institut Català d'Oncologia (ICO) L'Hospitalet de Llobregat.

**Organismos Modificados Genéticamente**

Nous-PEV consiste en dos OMG: GAd-PEV y MVA-PEV.

1) *GAd-PEV.*

GAd-PEV es el nombre de todos los OMG personalizados basados en el GAd20 (cepa de adenovirus de gorila) que constituyen la primovacunación del producto Nous-PEV personalizado y que se administrará antes del refuerzo con MVA-PEV en el ensayo.

El OMG (GAd-PEV) es un virus no replicativo en el que se ha delecionado la región E1 y se han insertado secuencias de antígenos correspondientes a neoantígenos tumorales específicos del paciente cuya expresión estimulará la respuesta del sistema inmunitario humano.

Dado que la secuencia de antígenos de cada GAd-PEV se conocerá únicamente después de la inclusión de los pacientes en el ensayo, para la solicitud de autorización se ha presentado información de ejemplos de GAd-PEV, es decir de lotes piloto de GAd-PEV que codifican neoantígenos tumorales identificados en los tumores de pacientes afectados de carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM) o melanoma metastásico (MM). El mismo proceso se utilizará para el OMG personalizado.

GAd CPNM, codifica 54 neoantígenos (epítomos, nAgs) identificados mediante secuencia de segunda generación (next generation sequencing, NGS) de una biopsia de carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM). Los epítomos se unen orientados en el mismo sentido (*head to tail*) y son codificados por dos polipéptidos (transgeneses) cuya secuencia nucleotídica derivada se introduce en una casete de expresión doble.

GAd MM, codifica 61 neoantígenos (epítomos, nAgs) de una biopsia de Melanoma Metastásico en la que las secuencias transgénicas se organizan de la misma forma que en Gas CPNM.



El vector pGAd20 pre-Adeno se obtuvo mediante la obtención del ADN genómico del virus, clonación en un BAC (cromosoma bacteriano artificial), seguido de las delecciones en genes adenovirales e inserciones de elementos reguladores y las dos casetes de expresión transgénicas.

El virus GAd se rescata a través de la transfección del ADN del vector pre-Adeno en células M9.S. Para permitir la replicación durante los pasos de rescate y amplificación, las células M9.S hospedadoras, que tienen la región E1 del Ad5 humano, suplen las funciones de E1 en *trans*.

## 2) MVA-PEV

MVA-PEV es el nombre colectivo de todos los OMG personalizados basados en el MVA que constituyen el refuerzo del producto Nous-PEV personalizado y que se administrará después de la primovacunación con GAd-PEV en el ensayo.

El OMG (MVA-PEV) es un virus Vaccinia Ankara, de replicación defectuosa, en el que se han insertado secuencias de antígenos correspondientes a neoantígenos tumorales específicos del paciente, cuya expresión estimulará la respuesta del sistema inmunitario humano.

Dado que la secuencia de antígenos de cada MVA-PEV se conocerá únicamente después de la inclusión de los pacientes, se presenta información detallada de un ejemplo de MVA-PEV, es decir de lotes piloto de MVA-PEV que codifican neoantígenos tumorales identificados en los tumores de pacientes afectados de carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM).

MVA CPNM contiene un transgén sintético que codifica 54 neoantígenos (epítomos, nAg) identificados por NGS en una muestra de biopsia de carcinoma pulmonar no microcítico (CPNM). Se trata de los mismos neoantígenos codificados por GAd CPNM. El transgén está diseñado como una secuencia codificante de dos grupos de epítomos (27 nAg cada uno) unidos orientados en el mismo sentido (*head-to-tail*).

El MVA CPNM recombinante se creó mediante dos eventos de recombinación homóloga secuenciales en las células Age 1 para insertar el casete de expresión transgénica en la región de la delección III del esqueleto de MVA.

## **Evaluación del riesgo para el medioambiente**

### **Virus contaminantes competentes en replicación**

#### *GAd-PEV*

Los vectores GAd20 no tienen capacidad de replicación debido a la delección de la región E1 viral.

La reversión a un virus con capacidad de replicación requeriría la recombinación homóloga entre el genoma del vector GAd20 y la secuencia E1 del Ad5 humano, de forma que se reconstituya una región E1 funcional en el genoma del GAd20. La probabilidad de que se dé una situación semejante es muy baja debido a la poca homología de las secuencias entre las regiones flanqueantes E1 del Ad5 humano y E1 del GAd20.

Las posibles impurezas del producto corresponden a adenovirus con capacidad de replicación, como resultado de la recombinación homóloga potencial entre el vector viral piloto GAd CPNM y la región E1 del adenovirus humano tipo 5 de las células hospedadoras M9.S. Aunque el riesgo de que ocurra este evento de reversión se considera insignificante, se analizará el producto final mediante PCR. En los lotes piloto no se han detectado adenovirus competente para la replicación



### *MVA-PEV*

El OMG no tiene capacidad de replicación en mamíferos debido a la delección de aproximadamente 30 kb durante el proceso de atenuación. Se considera extremadamente improbable que el MVA pueda volver a adquirir esta secuencia eliminada, muy grande, a partir de un virus emparentado, ya que esto supondría la infección concomitante por MVA y otras cepas Vaccinia, lo cual no es posible dada la ausencia de infectividad del MVA.

### Estabilidad

Para analizar la estabilidad genética de los productos GAd-PEV y MVA-PEV durante el proceso de fabricación, la secuencia de las casetes transgénicas se verifican en diversas fases del proceso de construcción de los vectores y en el producto final. Este control será parte de las pruebas analíticas que se realizarán en cada lote clínico de GAd y MVA PEV.

### *GAd-PEV*

En el caso de los lotes piloto, la secuencia del genoma viral se analizó mediante SNG en el producto final y se verificó la conformidad del genoma del vector pre-Adeno con la secuencia de referencia. Además, se analizó el patrón de la digestión con enzimas de restricción del genoma viral en comparación con el patrón de los vectores pre-Adeno.

### *MVA-PEV*

Los lotes piloto se han analizado mediante PCR específica para los brazos de homología utilizados para la inserción de los casetes de expresión transgénicos en el genoma del MVA (región flanqueante III) y para el transgén.

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

GAd-PEV y MAV-PEV se probarán por primera vez en el ensayo clínico propuesto, el primero en seres humanos, por lo que no existen datos sobre su excreción ni su biodistribución. Sin embargo, los resultados de varios ensayos clínicos realizados con vectores muy similares, así como los resultados de farmacocinética de estudios preclínicos, muestran la ausencia de excreción cuando el vector se administra por vía intramuscular.

### Interacción con otros medicamentos u OMG

GAd-PEV y MVA-PEV se administrarán a pacientes oncológicos que están siendo tratados con pembrolizumab como tratamiento habitual según las normas asistenciales. Además, después de la única administración de GAd-PEV, se realizarán tres administraciones de MVA-PEV como inyecciones de refuerzo.

Todavía no se dispone de datos clínicos de estos OMG en concreto dado que se trata del primer ensayo en seres humanos. En estudios anteriores con OMG similares, no se han observado interacciones farmacodinámicas aparte de las propias de la condición de ser los componentes de primovacunación y refuerzo de la vacuna integral.

De acuerdo a los datos de estudios preclínicos, no se prevén interacciones farmacodinámicas entre el producto complementario y los OMG.

### Manipulación, control y tratamiento de residuos

El producto se entregará a cada centro, en una caja con nieve carbónica, utilizando un servicio de mensajería. La caja con nieve carbónica tiene una bolsa-sobre en la que se encuentra una caja de



cartón con el o los viales de GAd-PEV o MVA-PEV necesarios para un determinado paciente. Cada caja de cartón está sellada al vacío en dos bolsas de cierre hermético y, una vez entregada, deberá almacenarse en el centro sin retirar la bolsa sellada (como se indica en el Manual de Farmacia). El producto se almacenará en una zona de acceso restringido.

El transporte interno de los viales desde el lugar de almacenamiento hasta el sitio donde se administrarán deberá realizarse, igualmente, colocándolos en posición vertical en un soporte para viales. No se necesita un contenedor sellado puesto que el vial ya está sellado con el casquillo desprendible. Dado que el vial contiene la dosis que deberá inyectarse y está listo para utilizarse (no es necesario preparar la dosis), la persona que administrará la vacuna al paciente solo tendrá que extraer con una jeringa el volumen adecuado del vial.

Se utilizarán guantes, bata de laboratorio/bata blanca y gafas como equipamiento de protección individual.

Después de la administración o en caso de derrame accidental, se seguirán los procedimientos especificados en el Manual de Farmacia para la limpieza/desinfección. En resumen, deberá secarse el área con papel absorbente, tratar la superficie con hipoclorito de sodio al 10% o etanol al 70% o Virkon durante 30 minutos por lo menos. A continuación se enjuagará y secará.

El producto sobrante, así como todos los materiales que hayan estado en contacto con los OMG, se eliminarán como residuos biopeligrosos de acuerdo a los procedimientos de los centros hospitalarios.

A los pacientes tratados se les cubrirá el lugar de la inyección (deltoides) con un apósito durante 30 minutos que se eliminará como residuo biopeligroso. Puesto que no se dispone de información sobre el tiempo que los OMG permanecen en la zona de inyección, se indicará a los pacientes que no se toquen la zona en la que se ha administrado el producto y que adopte medidas de higiene básicas como el lavado de manos.

**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 de los mismos 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, 4 de noviembre de 2020