



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/15/11)

Título del ensayo

“Ensayo clínico en fase I/II para el tratamiento de la Mucopolisacaridosis tipo IIIB (MPS IIIA-Síndrome de Sanfilippo de tipo B)” con el producto de terapia génica rAAV9.CMV.NAGLU.

Características del ensayo

Abeona Therapeutics Inc. presenta una solicitud para realizar un ensayo clínico en fase I/II para el tratamiento del Síndrome de Sanfilippo Tipo IIIB con el producto rAAV9.CMV.NAGLU que se llevará a cabo en España, en el Hospital de Cruces, además de en Australia, con un total de 18 pacientes. Como se trata de un ensayo competitivo, no es posible determinar de antemano el número de pacientes a tratar en cada país.

El propósito principal de este desarrollo clínico es conseguir la restauración de la actividad enzimática de α -N-acetilglucosaminidasa humana (NaGlu), enzima deficitaria en el síndrome de Sanfilippo IIIB, responsable de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. El enfoque elegido se dirige a restaurar la actividad de NaGlu tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el periférico ya que el deterioro neurológico es el más devastador en esta enfermedad por lo que el OMG utilizado tiene capacidad para atravesar la barrera hematoencefálica y transducir células del sistema nervioso.

Características del OMG

El OMG es un virus/vector adenoasociado recombinante, rAAV9.CMV.NAGLU no replicativo, en el que se han delecionado las secuencias codificantes para la proteínas virales (excepto las regiones terminales invertidas o ITRs), e incorpora un *cassette* de expresión génica basada en el cDNA de la α -N-acetilglucosaminidasa humana bajo el promotor temprana del citomegalovirus humano (CMV) y la secuencia de poliadenilación de la hormona bovina de crecimiento.

El OMG se obtiene mediante la co-transfección de la línea celular HEK293 humana con los tres plásmido siguiente:

- El plásmido pTR-hNAGLU, portador de la secuencia que codifica la proteína NaGlu.
- El plásmido AAV2-9 helper, que proporciona los componentes de la cápside del OMG; codificando para las 4 proteínas (Rep) de tipo silvestre del serotipo AAV2 y las 3 proteínas virales (VP) procedentes del serotipo AVV9.
- El plásmido pHELP adenovirus helper, que contiene las regiones del genoma del adenovirus necesarias para la replicación del AAV (E2A, E4ORF6 y ARN VA), que representan un 40% aproximadamente del genoma del adenovirus. Este plásmido no contiene los elementos *cis* críticos para la replicación del adenovirus como las repeticiones terminales.

Los vectores derivados de virus AAV son clasificados como vectores no integrativos. El vector recombinante entrará en una célula y permanecerá dentro del núcleo como concatámero (lineal o circular) con una expresión estable de la proteína NaGlu. La enzima NaGlu será parcialmente secretada y puede ser captada por las células vecinas, por lo que existe un efecto “bystander” del que



pueden beneficiarse las células dentro del SNC y en otros tejidos, razón por la que se usa el promotor U1A para la expresión ubicua de NaGlu.

Administración

La preparación del producto (descongelación, posible dilución y preparación de jeringa) se realizará en cabina de bioseguridad de clase II. La administración se realizará por infusión que durará entre 10-20 minutos. Los pacientes serán hospitalizados durante al menos 48 horas. Después el paciente será seguido durante 24 meses.

Identificación de riesgos potenciales

Estabilidad genética

La estabilidad genética del vector es equivalente a la del tipo silvestre de AAV, sin embargo, como es un vector no replicativo la estabilidad no es relevante. El OMG se mantiene en las células huésped sin integrarse, formando concatámeros y manteniéndose de forma episomal.

La consistencia de la secuencia del genoma OMG se confirma mediante primero la identificación del ADN de los tres plásmidos usados para la producción del virus adenoasociado, que se lleva a cabo mediante secuenciación de ADN y análisis de restricción y, sucesivamente, a través de la confirmación del DNA del OMG que también se realiza por análisis de restricción del ADN. Los análisis se incluyen entre los criterios de liberación de los lotes de fabricación de los plásmidos y del OMG.

Patogenicidad

Los vectores recombinantes AAV son capaces de infectar células de humano y animales pero no son patogénicos, toxicogénicos, virulentos, alergénicos o vectores de un patógeno. No son capaces de replicar y, consecuentemente, no puede formar colonias en otros organismos. Por ese motivo, tanto los virus AAV como los vectores recombinantes AAV se clasifican como nivel de bioseguridad de la clase o grupo I (riesgo nulo o insignificante).

Debido estas características, la probabilidad que haya un intercambio de material genético con otros microorganismos es casi nula y la liberación de los OMG no representarían un riesgo ambiental.

Capacidad de supervivencia, establecimiento y diseminación

Como el OMG no puede replicarse, la dispersión del organismo está limitada a la administración del OMG a los pacientes en el estudio clínico, y a su diseminación por los fluidos biológicos de los pacientes tratados. El rAAV9.CMV.NAGLU puede ser detectado específicamente y cuantificado mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (QPCR) que es capaz de detectar genomas del OMG mediante amplificación de una pequeña región del genoma del mismo. La liberación del OMG por los pacientes es limitada en el tiempo.



Las muestras para el estudio de la excreción del OMG (suero, orina, saliva y heces) se recogerán desde el tiempo basal hasta el día 90 después de la administración del OMG, los días 7, 14, 30, 60 y 90. En los días 60 y 90 las muestras serán recogidas y analizadas solo en caso de no obtener dos negativos consecutivos en las muestras anteriores. Se espera que el OMG sea excretado por los fluidos biológicos varios días tras la administración del tratamiento (hasta unos 30 días después) en muy pequeñas cantidades. Desde el día 0 hasta el día 2, que es cuando se puede esperar mayor excreción de partículas, los pacientes se mantienen en el hospital bajo estricto control. Posteriormente tendrán que seguir lo descrito en la hoja de “Instrucciones a los pacientes” en la que se detallan las medidas necesarias para evitar la diseminación del OMG a otras personas y al medio ambiente:

Durante los 90 días tras recibir el tratamiento su hijo deberá:

- *Evitar los besos.*
- *Evitar compartir cubiertos, platos, vasos, toallas.*
- *Neutralizar la orina y las heces generadas con lejía diluida (10% en agua) antes de su eliminación habitual.*
- *En presencia de algún tipo de herida sangrante, todos los materiales utilizados para limpiarla y taparla (apósitos, gasas, compresas, etc.) serán neutralizados con lejía diluida (10% en agua) tras su uso antes de ser tirados a la basura.*
- *Limpiar cualquier derrame de fluidos biológicos cubriendo el área afectada con papel adsorbente y posteriormente descontaminarla con lejía diluida. Los residuos también se neutralizarán con lejía antes de ser tirados a la basura.*

Eliminación de residuos

La manipulación del OMG en el hospital se realizará de acuerdo a las normas de trabajo con agentes biológicos de nivel de bioseguridad 1 y a los procedimientos internos (Plan de Calidad y Mejora del Hospital de Cruces).

El OMG se almacenará en un área de acceso limitado tras la recepción por el departamento de farmacia siguiendo las instrucciones del promotor recogidas en el Manual de Farmacia. El almacenamiento se realizará en un congelador de -80°C localizado en la Unidad de Investigación de Biocruces.

La preparación del producto final (descongelación, posible dilución, y preparación de jeringa) se realizará en un cabina de seguridad tipo 2. La jeringa preparada para la administración será transportada a la habitación individual donde está hospitalizado el paciente en un contenedor apropiado para evitar los derrames y etiquetado como “Contiene OMG”.

La destrucción de todo el material empleado en la manipulación del OMG se realizará de acuerdo a los procedimientos internos de manejo de agentes biológicos.

Los pacientes, tras 48 horas de hospitalización después de la administración del tratamiento, serán dados de alta por lo que deberán seguir las indicaciones de la hoja de instrucciones al paciente para reducir la posibilidad de diseminación del virus recombinante.



Seguimiento

Se realizará un seguimiento de seguridad de los pacientes de 5 años de duración tras la finalización del estudio, según el protocolo del ensayo clínico.

No se consideran planes específicos para el medio ambiente. Debido a las acciones preventivas tales como hospitalización de los pacientes durante al menos 48 horas después del tratamiento, control de la diseminación a través la desinfección de las aéreas posiblemente contaminadas, y la neutralización de los fluidos de los pacientes, se espera una liberación del OMG muy residual. Además, al ser el OMG utilizado no replicativo tampoco se espera su diseminación. Si se observaran efectos de relevancia sobre el medio ambiente, la utilización del OMG se paralizaría hasta que se aplicaran las medidas adecuadas que eliminen el posible riesgo.

Se deberá informar a la Comisión Nacional de Bioseguridad si se modifican las condiciones del ensayo clínico. Así mismo, se deberá informar de manera inmediata en el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente.

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 30 de noviembre de 2015