



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/21/25)

Título del ensayo clínico

Estudio de fase III multinacional, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de liberación génica sistémica para evaluar la seguridad y la eficacia de SRP-9001 en sujetos con distrofia muscular de Duchenne (EMBARC), del promotor Sarepta Therapeutics Inc.

Características del organismo modificado genéticamente

SRP-9001 es un virus adenoasociado (AAV), derivado del serotipo rh74, no replicativo que contiene un gen de la microdistrofina humana bajo el control de un promotor optimizado para impulsar su expresión en el músculo cardíaco y esquelético y un potenciador. El transgen está insertado entre las repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV2.

El OMG SRP-9001 se obtienen mediante transfección transitoria de células HEK293 con el plásmido de transferencia que codifica el transgén, el plásmido de empaquetamiento que codifica las proteínas replicativas y las proteínas de la cápside del AAV y un plásmido auxiliar que codifica los elementos de adenovirus necesarios para la replicación de AAV.

Características del ensayo

El promotor prevé una duración de este estudio de febrero de 2022 a noviembre de 2024.

En el ensayo participarán el Hospital Universitario La Fe de Valencia y el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona.

SRP-9001 se administrará a los pacientes con una dosis única a través de un catéter venoso insertado en una vena periférica de una extremidad (brazo o pierna). Los sujetos de peso <70 kg recibirán el día 1 una dosis, basada en el peso, de SRP-9001, de 1.33×10^{14} vg/kg. Los sujetos de peso ≥ 70 kg recibirán el día 1 una dosis fija total de SRP-9001 de 9.31×10^{15} vg, equivalente a una dosis de 1.33×10^{14} vg/kg en un sujeto de 70 kg.

Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación (RCV).

La detección y cuantificación del AAV competente en replicación se determina mediante pases seriados en células HEK293 y detección de la presencia Rep2 mediante qPCR.

El criterio de aceptación es que el resultado sea negativo. Hasta la fecha, todos los resultados de la liberación del lote han sido negativos.

-Estabilidad

Se espera que la estabilidad genética de SRP-9001 sea equivalente al AAV rh74 de tipo silvestre.

La estabilidad genética de los virus de ADN (AAV) está bien caracterizada y, en general, son muy estables en comparación con los virus de ARN. Esto puede atribuirse a factores como que el ADN tiene más estabilidad termodinámica que el ARN, que la replicación del ADN es un proceso mucho menos propenso a errores que la replicación del ARN y que existen más mecanismos en la célula huésped para reparar errores en el ADN que en el ARN.



También se sabe que el ADN del AAV rh74, así como los vectores recombinantes basados en AAV, persiste en las células transducidas como concatémoros episómicos circulares (extracromosómicos) en tejidos humanos. Debido a la carencia de los genes *rep* y *cap* virales, se espera que SRP-9001 permanezca en las células como episomas y no se replicará y producirá partículas virales.

Presentan los resultados de secuenciación de varios lotes en los que se verifica que la secuencia del casete de expresión coincide con la secuencia de referencia, y los resultados de otros parámetros analizados aspecto, pH, título físico por qPCR (diana de MHCK7, standard linealizado), título viral infeccioso por TCID50, potencia (*Western Blot*), pureza del vector por SDS-PAGE, etc, que se utilizan para la liberación de lote.

Los lotes examinados hasta la fecha y en cada punto de tiempo han cumplido las especificaciones de estabilidad.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding)

Se realizó un estudio de toxicidad y biodistribución por inyección intravenosa de una dosis única de SRP-9001 en ratones, con un período de observación de 12 o 24 semanas.

Se asignaron ratones macho (C57BL/6J o C57BL/10ScSn-DMDmdx/J [DMDMDX]) a seis grupos y se administraron dosis, entre 1.33×10^{14} vg/kg y 4.01×10^{14} vg/kg, por inyección intravenosa (en embolada) a través de una vena de la cola.

En el análisis de muestras de excreción tras la administración se detectaron niveles máximos de ADN del vector el día 2 (orina, heces y plasma) que disminuyeron progresivamente en consonancia con el tiempo desde la administración. A día 44 no se cuantificaban o se encontraban por debajo del límite de detección.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Los viales de SRP-9001 llegarán en una caja de transporte rígida y blanca dentro de una bolsa de plástico precintada. Tras su recepción se almacenarán bajo llave en una sala con acceso controlado bajo la responsabilidad del investigador u otras personas autorizadas.

En el Manual de Farmacia que el promotor proporciona a los centros que participan en el ensayo clínico se recoge información relacionada con las medidas de bioseguridad:

- Se requerirá que las personas que manipulen el vector usen equipos de protección individual adecuados. Se aplicarán medidas de bioseguridad para agentes biológicos del grupo de riesgo 1.
- El personal utilizará guantes (posibilidad de usar guantes dobles), gafas de seguridad, bata de aislamiento desechable y manguitos o sujeción de los guantes sobre las mangas de la bata de laboratorio.
- Todos los materiales utilizados para la preparación que entren en contacto con el producto en investigación se recogerán en contenedores primarios y secundarios a prueba de fugas. Estos contenedores se eliminarán como residuos de riesgo biológico.
- Todas las superficies se descontaminarán con los agentes apropiados, como una dilución 1:10 de una solución de hipoclorito de sodio (lejía) al 5.25%, según la política.
- También informan de cómo actuar en caso de derrame accidental.
- La preparación del producto en investigación se realizará en cabina de seguridad biológica.



Para el transporte al lugar de administración se utilizará un recipiente hermético para evitar derrames accidentales.

Los viales vacíos y los viales usados, así como los componentes del sistema de administración en contacto con el producto (cánula, agujas de inyección y jeringas), gasas, equipo de protección personal y los componentes utilizados para la toma de muestras de líquidos corporales después de la administración se eliminarán residuos biopeligrosos.

El promotor dispone de un manual para el personal quirúrgico responsable de la intervención de biopsia muscular del paciente (datos sobre el manejo, almacenamiento y transporte de las muestras.).

Se darán instrucciones a los familiares y cuidadores a que practiquen una buena higiene de las manos después de la administración del producto. Se recomendará a los pacientes que mantengan estas medidas durante 4 semanas. En base a los resultados de eliminación del vector en estudios preclínicos y clínicos con vectores adenoasociados similares.

El promotor indica que no se prevé que los pacientes que participen en el ensayo clínico necesiten utilizar pañales. Sin embargo, la CNB recomienda que entre las instrucciones que se den a los pacientes, familiares o cuidadores se debe incluir, si existe posibilidad de que se utilicen pañales, que éstos se recojan junto con las toallitas utilizadas en una bolsa de plástico o en doble bolsa y se añada lejía (una cantidad aproximada de medio vaso), en lugar ventilado, u otro producto virucida adecuado, antes de ser eliminados como residuos urbanos.

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 27 de diciembre de 2021.