



**BUENAS PRÁCTICAS EN LA EVALUACIÓN DE ASPECTOS RELACIONADOS CON LOS
OMG EN EL CONTEXTO DE ENSAYOS CLÍNICOS CON VECTORES CLÍNICOS
DERIVADOS DE VIRUS ADENOASOCIADOS (AAV)¹**

Histórico del documento	Fecha de publicación	Descripción de los principales cambios
Versión 1	1 Enero 2020	

_ ver 1 enero 2020 _____

¹ Este documento no ha sido adoptado por la Comisión Europea y, por lo tanto, no contiene la posición oficial de la Comisión Europea.



1. INTRODUCCIÓN

Los vectores virales adenoasociados se pueden usar para producir medicamentos. Estos vectores derivan del virus adenoasociado (en adelante "AAV" por sus siglas en inglés), un virus de ADN monocatenario que pertenece a la familia *Parvoviridae*.

Los AAV están ampliamente distribuidos entre una gran cantidad de animales y humanos. Se estima que aproximadamente el 80% de la población adulta es seropositiva a al menos un serotipo AAV. A pesar de la distribución ubicua de los AAV y la alta frecuencia de la inmunidad del AAV, los AAV no se han asociado con ninguna enfermedad patógena en humanos o animales.

Los virus AAV no pueden replicarse a menos que la célula esté coinfectada con un virus auxiliar. Se sabe que el adenovirus, el virus del herpes simple, el virus de la seudorrabia y el virus del papiloma humano son compatibles con la replicación de AAV de tipo silvestre. En presencia de un virus auxiliar, el AAV genera una infección productiva caracterizada por la replicación del genoma, la expresión de los genes virales y la producción de viriones. En ausencia de un virus auxiliar en la célula infectada, el ADN viral puede persistir en el núcleo de la célula huésped en forma episomal o puede integrarse en el genoma de la célula huésped, dando como resultado una infección latente. Una infección latente por AAV puede reactivarse mediante la infección de la célula por un virus auxiliar. La integración del AAV en el ADN de la célula huésped en los *loci* preferidos, como por ejemplo la integración en el sitio AAVS1, está mediada por la proteína Rep de AAV.

Los AAV pueden infectar tanto las células en división como las que no se dividen y pueden infectar una amplia gama de tipos de células, aunque serotipos específicos pueden estar asociados a un tropismo tisular más eficiente.

Las partículas virales adenoasociadas no tienen envuelta y son altamente estables en el medio ambiente, incluso cuando se desecan.

En los vectores utilizados en la práctica clínica se elimina casi todo el genoma del virus de tipo silvestre, con la excepción de las repeticiones terminales invertidas (ITR por sus iniciales en inglés). Esto deja una capacidad de empaquetamiento de 4.4 a 4.7 kb, aunque, con ciertas estrategias de producción, la capacidad de empaquetamiento del vector AAV podría incrementarse hasta un máximo de 6 kb.

Si bien hay una serie de estrategias de fabricación que se pueden utilizar para producir vectores clínicos a partir de AAV, los elementos funcionales básicos son:

- Los ITR del AAV flanqueando el "gen de interés" (esta construcción contiene los elementos en *cis* necesarios para el empaquetamiento y la replicación del genoma de ADN monocatenario).
- Las secuencias genéticas (*Rep* y *Cap*) necesarias para la replicación del AAV y las proteínas de la cápside viral (generalmente proporcionadas en *trans* dentro de un plásmido, un vector baculoviral o en una línea celular de empaquetamiento).
- Funciones del virus auxiliar: son posibles varios enfoques, desde el enfoque anterior de co-infección del virus auxiliar, hasta la co-transfección con un plásmido o co-transducción con vectores derivados de baculovirus que codifican los genes auxiliares.
- Una línea celular capaz de mantener la replicación del virus auxiliar y de AAV.



Teniendo en cuenta lo anterior, así como la experiencia acumulada con la evaluación de vectores clínicos derivados de AAV, la evaluación de las solicitudes para la realización de ensayos clínicos con vectores clínicos derivados de AAV debe basarse en los elementos descritos en el formulario de solicitud que figura en el Anexo.

Los ensayos clínicos con vectores clínicos derivados de AAV de acuerdo con los requisitos del ERA en la Sección 2 pueden realizarse con medidas de bioseguridad de nivel 1 (BSL-1).

2. EVALUACIÓN DEL RIESGO MEDIAMBIENTAL (ERA) ESPECÍFICA

Este ERA solo es aplicable a los vectores clínicos derivados de AAV si el solicitante demuestra la ausencia de formación de virus competentes para la replicación y que el transgén no es dañino.

2.1 Identificación y caracterización de peligros.

Peligros potenciales para la salud humana.

- *Peligros asociados con la liberación de AAV competentes para la replicación:* existe el peligro potencial de que el vector clínico adquiriera competencia para su replicación si se recombina el vector clínico en individuos infectados simultáneamente por un virus AAV de tipo silvestre y un virus auxiliar, seguido de la excreción (shedding) al medio ambiente. El producto recombinado sería un AAV. Teniendo en cuenta que no existe una patología conocida asociada a los AAV y que no hay ningún inserto peligroso presente en el vector clínico, los riesgos asociados con la liberación de AAV competentes para la replicación pueden considerarse muy bajos.

- *Peligros asociados con la persistencia a largo plazo del vector clínico dentro de las células transducidas (infección latente):* el vector clínico se administra a pacientes con el fin de tratar una afección subyacente. La persistencia del vector clínico en las células del paciente tratado es una característica esperada del vector y no constituye un peligro para la salud humana. Sin embargo, la transferencia involuntaria del vector clínico a individuos que no sean el sujeto del ensayo clínico podría dar lugar a una transducción con el vector clínico AAV, en cuyo caso se espera que el ADN del vector clínico AAV persista en las células transducidas de esos receptores no intencionados como episomas estables, o el vector clínico AAV puede, en raras ocasiones, integrarse (ver punto a continuación).

Teniendo en cuenta que no existe una patología conocida asociada a los AAV y que no hay ningún inserto peligroso presente en el vector clínico, los riesgos asociados con la persistencia a largo plazo del vector clínico dentro de las células transducidas pueden considerarse muy bajos.

- *Peligros asociados con la mutagénesis por inserción:* ciertos AAV de tipo silvestre pueden integrarse de manera estable en un locus específico del genoma de la célula huésped (AAVS1 en el brazo largo del cromosoma 19 humano); en caso de integración, continúan siendo no patogénicos. Por el contrario, los AAV recombinantes han perdido la capacidad de integrarse en sitios específicos del genoma de la célula huésped.

La integración en un sitio no específico del vector clínico en el genoma de las células infectadas podría conducir a mutagénesis por inserción en individuos que están expuestos al producto por accidente o por el medio ambiente (shedding)². Si el riesgo de integración en un sitio no específico se materializara, las consecuencias para las personas afectadas podrían considerarse moderadas.

² El riesgo de mutagénesis por inserción debe considerarse en relación con los beneficios esperados para el paciente. La evaluación de los riesgos para el paciente se realiza en la solicitud del ensayo clínico y no se considera específicamente en la ERA



- *Peligros asociados a la transmisión vertical/línea germinal:* los estudios de biodistribución en animales han demostrado que el ADN de los vectores clínicos AAV puede detectarse en el ADN gonadal durante un tiempo variable. Por consiguiente, no se puede excluir la presencia de AAV recombinante en las gónadas.

Existen restricciones, bajo el marco de la UE que regula la realización de ensayos clínicos con medicamentos para uso humano, que evitan la aparición de riesgos asociados a la transmisión vertical/línea germinal (prohibición de modificación de la línea germinal humana y restricciones en la realización de ensayos clínicos con mujeres embarazadas y lactantes). En consecuencia, este escenario no se aborda más en esta ERA.

Posibles peligros para los animales o el medio ambiente.

- *Peligros para los animales:* los animales pueden ser huéspedes naturales de ciertos virus AAV. Por lo tanto, no se pueden descartar los riesgos potenciales para los animales que estén expuestos al vector clínico diseminado por el sujeto del ensayo clínico. Teniendo en cuenta que no existe una patología conocida asociada a los AAV y que no hay ningún inserto peligroso presente en el vector clínico, los riesgos asociados con la liberación de AAV competentes para la replicación pueden considerarse muy bajos.

2.2 Caracterización de la exposición

Probabilidad de efectos adversos relacionados con la recombinación/movilización.

Las partículas recombinadas tendrían los genes *rep* y *cap*, pero seguirían siendo defectuosas en la replicación (como el virus de tipo silvestre). Por lo tanto, el único mecanismo por el cual podría haber movilización es que la misma célula fuese infectada simultáneamente con el vector clínico, un virus AAV de tipo silvestre y un virus auxiliar (infección triple). La probabilidad de infección triple simultánea puede considerarse muy baja.

Probabilidad de efectos adversos relacionados con la persistencia a largo plazo del vector clínico dentro de las células transducidas (infección latente)

Posibles escenarios:

- (1) Transferencia accidental a individuos no diana: un posible escenario de transferencia accidental a terceros sería en caso de un accidente por pinchazo de aguja durante la administración o exposición accidental durante el manejo del producto por parte de profesionales de la salud. El medicamento en investigación es administrado por profesionales capacitados en un entorno altamente controlado, lo que minimiza la probabilidad de que ocurran transferencias accidentales durante la administración/manipulación del producto. Teniendo esto en cuenta, la probabilidad de que ocurra el peligro puede considerarse muy baja.
- (2) Transmisión por shedding: los contactos cercanos del sujeto de los ensayos clínicos podrían contaminarse con el vector clínico AAV a través de, por ejemplo, la saliva, sangre, lágrimas, semen, orina o heces del sujeto del ensayo clínico. Dependiendo de las características del vector clínico y la vía de administración, la probabilidad de shedding puede ser de baja a moderada. Sin embargo, su exposición cuantitativa al vector clínico sería mucho menor que la dosis clínica. Por lo tanto, la probabilidad general de que ocurra el peligro puede considerarse baja.



- (3) Donación de sangre, células, tejidos u órganos: los criterios de exclusión para las donaciones³ ponen limitaciones a la capacidad de los sujetos para donar. Si un paciente tratado con un vector clínico AAV se hiciera donante de sangre, células, tejidos u órganos, el receptor de la donación podría estar expuesto al vector clínico de AAV. Sin embargo, en tal escenario, la exposición cuantitativa al vector clínico sería mucho más baja que la dosis clínica. Por lo tanto, la probabilidad de que ocurra el peligro puede considerarse muy baja.

Probabilidad de eventos adversos relacionados con mutagénesis insercional

Un vínculo causal entre la infección por AAV recombinantes y la mutagénesis insercional es una posibilidad teórica que se ha investigado en estudios preclínicos, pero hasta la fecha no se ha establecido dicho vínculo. Asimismo, no se ha establecido un vínculo causal entre la administración de medicamentos basados en AAV y la mutagénesis por inserción en ninguno de los ensayos clínicos realizados con vectores clínicos AAV hasta el momento.

La probabilidad de que ocurra mutagénesis por inserción en los tres escenarios de transferencia accidental/exposición no intencionada al vector clínico AAV mencionado anteriormente puede considerarse insignificante.

Probabilidad de eventos adversos relacionados con la transmisión a animales.

Los animales podrían quedar expuestos a partículas del vector clínico eliminadas por el sujeto del ensayo clínico. Un posible escenario es un niño tratado con un vector clínico de AAV que juega con una mascota.

Sin embargo, la exposición cuantitativa al vector clínico sería mucho menor que la dosis clínica. Por consiguiente, la probabilidad de transmisión involuntaria de cantidades significativas de AAV a animales a través del shedding se considera muy baja.

2.3 Caracterización del riesgo

Riesgos asociados con la recombinación/movilización.

En el escenario poco probable de que las células transducidas por el vector clínico se infecten simultáneamente con un virus AAV de tipo silvestre y un virus auxiliar adecuado, el resultado esperado es la producción de AAV de tipo silvestre y más partículas de vector, que no podrían replicarse al carecer de los genes *rep* y *cap*. Por lo tanto, los riesgos para el medio ambiente y la población humana pueden considerarse insignificantes.

Riesgos asociados a la persistencia a largo plazo del vector clínico dentro de las células transducidas (infección latente):

Los individuos no diana podrían desarrollar una infección latente del vector clínico AAV en estos escenarios:

³ Los criterios de elegibilidad para los donantes de sangre total y componentes sanguíneos se establecen en el Anexo III de la Directiva 2004/33/CE de la Comisión, de 22 de marzo de 2004, que aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a ciertos requisitos técnicos para la sangre y componentes sanguíneos (DO L91 de 30.3.2004, p. 25), en su forma enmendada.

Los criterios de selección para los donantes de tejidos y células se establecen en el anexo I de la Directiva 2006/17/CE de la Comisión, de 8 de febrero de 2006, por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a determinados requisitos técnicos para la donación, obtención y la evaluación de células y tejidos humanos (DO L38 de 9.2.2006, p. 40), en su forma enmendada.

Los criterios de caracterización de órganos y donantes para órganos se establecen en el anexo de la Directiva 2010/45/UE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de julio de 2010, sobre normas de calidad y seguridad de los órganos humanos destinados a trasplantes (DO L207 de 6.8. 2010, p. 14).



- (1) Transferencia accidental a individuos no diana: a pesar de la amplia prevalencia de AAV en la población, no se han asociado con ninguna enfermedad en humanos. En individuos con inmunidad preexistente (linfocitos T y anticuerpos) a los AAV, el sistema inmunitario eliminaría las moléculas del vector clínico. En consecuencia, se esperan efectos adversos nulos/insignificantes relacionados con la administración del vector clínico a individuos no diana, ya que el transgén no está asociado con ninguna propiedad patogénica.

En el caso de individuos inmunocomprometidos, se observa que muchos pacientes a los que se les ha administrado terapias con AAV han sido pre-acondicionados con esteroides durante semanas/meses con el fin de suprimir la respuesta inmune al vector clínico AAV. En este escenario de inmunosupresión inducida, no se han identificado problemas de seguridad (para el paciente) relacionados con la administración del vector clínico.

A la luz de lo anterior y de la muy baja probabilidad de transferencia accidental a individuos no diana, el riesgo asociado a una infección latente en caso de transferencia accidental del vector clínico a individuos no diana puede considerarse insignificante.

- (2) Transmisión por shedding: dada la baja tasa de infectividad de los AAV recombinantes, se requeriría un alto título para la transducción eficiente de las células. Por lo tanto, es muy poco probable que la diseminación de partículas tenga la capacidad de causar infecciones significativas en seres humanos.

Además, no se conoce que los AAV causen enfermedades en seres humanos. Asimismo, como no se han identificado propiedades tóxicas/dañinas relacionadas con la expresión del transgén, el riesgo asociado a la infección latente en caso de exposición a las partículas del vector clínico diseminado por el sujeto del ensayo se considera insignificante. Incluso si los contactos cercanos contaminados con el vector clínico AAV eliminado por el sujeto del ensayo clínico estuvieran inmunocomprometidos, se espera que el riesgo sea insignificante debido a la naturaleza no patógena de los AAV y la exposición cuantitativa limitada.

- (3) Donación de sangre, células, tejidos u órganos: dada la baja tasa de infectividad de los AAV recombinantes, se requeriría un alto título para la transducción eficiente de las células. Por lo tanto, es poco probable que la cantidad de partículas que puedan transferirse en caso de una transfusión o un trasplante pueda causar infecciones significativas en los receptores de la transfusión/trasplante.

Por lo tanto, considerando la naturaleza no patogénica de los AAV y la exposición cuantitativa limitada, el riesgo asociado con la posibilidad de infección latente en individuos no diana que reciben sangre, células, tejidos u órganos de un paciente tratado con un vector clínico AAV, se considera insignificante.

Riesgo asociado con mutagénesis insercional:

La mutagénesis por inserción en individuos que no sean el sujeto del ensayo clínico podría surgir después de la exposición a un vector clínico AAV en estos tres escenarios: transferencia accidental, shedding o donación de sangre, células, tejidos u órganos.

Teniendo en cuenta que:

- no se ha descrito la formación de tumores asociados con vectores clínicos AAV en pacientes tratados con vectores clínicos AAV (incluidos los pacientes que han sido inmunodeprimidos),



- la exposición cuantitativa en los tres escenarios anteriores no puede ser mayor que la dosis clínica,
- se espera que las moléculas del vector clínico sean eliminadas por el sistema inmune del individuo en cuestión,

El riesgo de mutagénesis por inserción en individuos no diana puede considerarse insignificante.

Riesgo asociado con la transmisión a animales.

No se conoce que los AAV sean patógenos para los animales. Dada la baja tasa de infectividad de los AAV recombinantes, se requeriría un alto título para la transducción eficiente de las células. Por lo tanto, es muy poco probable que la diseminación de partículas tenga la capacidad de causar infecciones significativas en animales. Además, no hay ningún producto genético peligroso presente en el vector clínico AAV.

Por lo tanto, el riesgo asociado con la transmisión a los animales se considera insignificante.

2.4 Estrategias de gestión de riesgos.

El solicitante debe considerar si se deben implementar estrategias de gestión de riesgos para minimizar la probabilidad de exposición accidental de los profesionales de la salud en el lugar del ensayo clínico. Estos deben figurar en la Sección 3.6 del formulario de solicitud común.

2.5 Determinación del riesgo general y conclusiones

Siempre que se implementen las medidas de control descritas por el solicitante, los riesgos generales para la salud humana y el medio ambiente pueden considerarse insignificantes.