



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/21/12)

Título del ensayo

Estudio de fase 3, abierto, de un solo grupo, para evaluar la eficacia y la seguridad de la transferencia de genes de FIX con PF-06838435 (VAAr-Spark100-hFIX-Padua) en participantes hombres adultos con hemofilia B moderadamente severa a severa (FIX:C \leq 2%) (BeneGene-2), del promotor Pfizer, Inc.

Características del ensayo

El promotor propone un período de liberación de noviembre 2021 a marzo 2023.

El OMG se administra como una sola infusión intravenosa a la dosis de 5.0E11 hasta una dosis potencial más alta de genomas vectoriales de 2E12 gv/kg de peso corporal. No se prevén modificaciones de la evaluación global hasta la dosis de PF-06838435 de 2E12 gv/kg, que es la dosis máxima prevista en cualquier cohorte en este momento.

En el ensayo clínico participarán el Hospital Universitario La Paz, Hospital Universitari Vall d'Hebron y el Hospital Universitario Rio Hortega.

Organismo modificado genéticamente

El OMG, PF-06838435 o (SPK-9001), es un vector recombinante no replicante derivado de un virus adenoasociado (AAV2) que contiene un gen que codifica el FIX humano, que puede ser eficaz para el tratamiento de pacientes con hemofilia B.

El OMG se obtiene transfectando células de riñón de embrión humano (HEK) 293 con ADN plasmídico que codifica los genes necesarios para la amplificación y el empaquetamiento del vector:

- plásmido que contiene las repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV2 que flanquean un minigén del factor IX humano (FIX) con optimización codónica (variante de Padua) y los elementos reguladores necesarios para garantizar la expresión de hFIX específica del hígado.
- plásmido que contienen los genes *rep* y *cap* del AAV.
- plásmido que proporciona los genes para la expresión de las proteínas colaboradoras de adenovirus para una replicación y un empaquetamiento eficientes del vector, pero carece de genes estructurales y de replicación adenovirales esenciales para generar un adenovirus.

Las células HEK293 se crearon originalmente transformando células HEK293 con ADN escindido del adenovirus de tipo 5. Estas células expresan los productos génicos E1a y E1b necesarios para la producción de AAV recombinante (rAAV) en títulos altos.

Evaluación del riesgo

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

Se realizan análisis de control de calidad del principio activo purificado PF-06838435, entre otros, los diseñados para detectar variantes fenotípicas del AAV con capacidad de replicación (rcAAV) natural (partículas empaquetadas que pueden replicarse en presencia de un virus colaborador), ADN de células huésped y ADN plasmídico residual.

El AAV se analiza mediante un análisis de PCR sensible. La prueba se utiliza para cuantificar secuencias de ADN que representan un episodio de recombinación entre una RTI y el gen *rep*



empleando la determinación mediante PCRc de amplicones correspondientes a la región RTI-*rep* para determinar el número de copias de especies de RTI-*rep*.

Los lotes clínicos de sustancia activa analizados cumplen el criterio de aceptación establecido.

-Estabilidad genética del OMG

El virus adenoasociado es un virus de ADN monocatenario con una gran estabilidad genética, según pone de manifiesto la estrecha relación existente entre los genes *rep* y *cap* de distintos serotipos y genotipos del AAV. Además, el AAV utiliza las ADN-polimerasas del huésped para la replicación vírica, que se caracterizan por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad adicional de exonucleasa de corrección de errores que da lugar a una tasa de error muy baja de replicación del ADN, en comparación, por ejemplo, con las ARN-polimerasas utilizadas por los virus de ácido ribonucleico (ARN).

En apoyo de la estabilidad genética está la observación de que los episomas de ADN proviral de AAV aislados de diferentes muestras de tejidos humanos poseen sistemáticamente las secuencias *rep* y *cap* canónicas esperadas del AAV2.

Basándose en esto, se espera también que PF-06838435 sea genéticamente estable. Además, cada lote del producto terminado destinado al ensayo clínico está sujeto a distintos análisis:

- Identificación del genoma del vector (mapa de restricción) del gen que codifica el factor IX amplificado mediante PCR a partir del plásmido que lo contienen y el principio activo.
- Pureza de la cápside del vector, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (RP-HPLC).
- Secuenciación directa del lote de material de referencia verificándose la conformidad con la secuencia esperada.

-Biodistribución (Shedding)

PF-06838435 se ha administrado a 15 sujetos como parte del estudio de fase 1/2a C0371005 y a partir del 21 enero 2019, a 29 pacientes como parte del estudio de fase 3 fundamental C0371002.

En el estudio C0371005, la excreción del vector se evaluó mediante un análisis por PCR cuantitativa de células mononucleares de sangre periférica, saliva, orina, semen y suero. El grado de excreción del vector fue máximo durante las dos primeras semanas después de la infusión del vector. Los niveles disminuyeron gradualmente en todos los tipos de muestras. La eliminación total se definió como la presencia de 3 muestras negativas consecutivas, determinadas mediante PCR cuantitativa. Todos los sujetos, excepto 3, lograron la eliminación completa en todos los tipos de muestras al final del estudio, pero todos habían alcanzado el primer valor negativo al final del estudio. En general, las células mononucleares de sangre periférica fueron la muestra con una eliminación más lenta, desde 17 semanas hasta ausencia de eliminación al final del estudio.

La magnitud y duración de la excreción del OMG se controlarán como parte del ensayo clínico de fase 3 propuesto. Se obtendrán muestras de plasma, saliva, células mononucleares de sangre periférica, orina y semen, en el momento basal y semanalmente según sea necesario hasta que al menos 3 muestras consecutivas den negativo para el tipo de muestra correspondiente. Se espera que algunos participantes, que consienten participar en un sub-estudio opcional, proporcionen muestras adicionales (2 horas \pm 30 minutos, 24 horas \pm 3 horas, 72 horas \pm 4 horas después de la finalización de la infusión del PI y la descarga en línea intravenosa (IV) el día 1).



La excreción se medirá por PCR cuantitativa (qPCR).

Las partículas virales diseminadas de PF-06838435 no pueden replicarse y se diluyen rápidamente en el ambiente, por lo que su diseminación será limitada. Una exposición mínima, como la exposición ambiental, de personas distintas de los sujetos que reciban PF-06838435 como parte del estudio no constituiría una dosis suficiente para representar una expresión génica significativa ni posibles riesgos de seguridad para los seres humanos. Si se produjera replicación, el único subproducto esperado sería la generación de más PF-06838435. La probabilidad de que esto ocurra es extremadamente baja.

Aparte de los posibles huéspedes humanos, no cabe esperar que la exposición a PF-06838435 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta. Así pues, el riesgo para los seres humanos y el medio ambiente asociado a la excreción vírica de PF-06838435 es bajo o insignificante.

No se han notificado hasta la fecha acontecimientos de transmisión en la estirpe germinal en el programa clínico de evaluación de PF-06838435.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

-Hospital Universitario La Paz,

El producto en investigación se almacena en una sala cerrada con acceso restringido del Servicio de farmacia de los centros hospitalarios. Se transportará de forma segura desde su lugar de almacenamiento a la sala del servicio de farmacia donde será preparado, en cabina de bioseguridad de clase II, tipos A2, B1 y B2, y clase III, y de ésta a la sala donde será administrado. El transporte se realizará en un contenedor designado para ello y por personal del estudio que haya sido formado. Se transportará diluido en una bolsa de suero salino en un recipiente. Como mínimo se debe introducir en una bolsa con cierre hermético de cremallera que se coloca dentro de una segunda bolsa con cierre de cremallera y seguidamente en un contenedor antiderrame de paredes rígidas marcado con el símbolo de riesgo biológico.

Todas las superficies contaminadas con PF-06838435 se descontaminarán con un desinfectante adecuado, como hipoclorito de sodio al 10 %, Wescodyne o desinfectante a base de detergente. El tiempo mínimo de contacto requerido con PF-06838435 es de 20 minutos para la lejía al 10 % o el que se indique en la ficha técnica de una solución descontaminante alternativa equivalente. Al finalizar este tiempo de contacto, además podrá limpiarse la zona de acuerdo con los procedimientos habituales locales.

El personal del centro y todos los que estén presentes durante la preparación y la administración deben llevar un equipo de protección personal (EPP) estándar para la manipulación de los agentes de riesgo tipo 1. Como mínimo, los EPI deben incluir bata desechable de cierre posterior, gafas de seguridad, gafas o pantalla contra salpicaduras, guantes, gorro para el pelo y cubrecalzas.

Los viales se destruirán una vez finalizada la preparación de la dosis según el proceso acordado para las sustancias de riesgo biológico y no se devolverán al promotor del estudio.

Los consumibles usados en la preparación del OMG que puedan haber estado en contacto con PF-06838435 se descontaminarán antes de su eliminación (mediante autoclave o mediante tratamiento con un desinfectante químico adecuado eficaz contra el AAV) y/o se incinerarán. Los residuos líquidos se descontaminarán usando un desinfectante químico adecuado o mediante autoclave. Los desinfectantes que son eficaces contra el AAV son el hipoclorito de sodio al 10%, Wescodyne o desinfectante a base de detergente.



El análisis de las muestras se realizará en los laboratorios de ensayos de cada centro hospitalario. En general, las muestras se transportarán en cajas de cartón con un inserto del tamaño adecuado para albergar los viales. Las cajas de cartón se introducen en un núcleo interno que puede contener hasta 12 cajas etiquetadas. A continuación, el núcleo interno se coloca en una bolsa sellada para materiales biopeligrosos que se coloca en el contenedor

Se informará a los pacientes de las medidas que deben aplicar para evitar la diseminación del OMG.

Se va a utilizar un servicio de enfermería a domicilio para la toma de muestras en los pacientes. Se pondrá a disposición de este servicio documentos en los que se recoge como han de desinfectar, transportar las muestras, los equipos de protección que deben utilizar y como deben eliminar los residuos

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, a 7 de mayo de 2021