



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE UN VIRUS ADENOASOCIADO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/02)

Título del ensayo

Estudio clínico en fase IIb, aleatorizado, con doble enmascaramiento, multicéntrico, de determinación de dosis y controlado con un procedimiento simulado para evaluar el virus adenoasociado JNJ-81201887 (AAVCAGsCD59) intravítreo en comparación con el procedimiento simulado para el tratamiento de la atrofia geográfica (AG) secundaria a la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), del promotor Janssen-Cilag International NV.

Características del organismo modificado genéticamente

El OMG; AAVCAGsCD59, es un virus adenoasociado recombinante, incompetente para la replicación, que contiene una casete de expresión flanqueada por las repeticiones terminales invertidas (ITR) del serotipo 2 de AAV (AAV2) que proporcionan la señal de empaquetamiento, y que consiste en un promotor, el ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) que codifica la proteína humana CD59 truncada para eliminar el anclaje del glucosilfosfatidilinositol (GPI) y una secuencia de poliadenilación.

AAVCAGsCD59 se fabrica mediante transfección transitoria de las células HEK293, que proporcionan la proteína E1 de Adenovirus en *trans*, con tres plásmidos: un plásmido transgénico que contiene la casete de expresión de CD59 humano, un plásmido adenovírico auxiliar que contiene las regiones del genoma del adenovirus 2 que son importantes para la replicación del AAV y un plásmido de empaquetamiento que contiene los genes de replicación (rep) y cápside (cap) del AAV2.

El principio activo, el medicamento y el proceso de fabricación se supervisan con un amplio panel de pruebas de control de calidad que incluyen identidad del transgén, identidad de la cápside, título del genoma del vector, pureza e identificación de la proteína, título infeccioso, potencia *in vitro* y relación entre el genoma del vector y el título infeccioso, así como presencia de AAV competentes para la replicación (AAVcr).

Características del ensayo

AAVCAGsCD59 se administrará en un solo ojo de cada paciente, que se elegirá del siguiente modo: 1) el ojo con peor agudeza visual atribuida a la AG, o 2) el ojo derecho, si ambos ojos tienen igual agudeza visual atribuida a la AG.

AAVCAGsCD59 se administrará mediante inyección intravítrea, empleando un procedimiento quirúrgico estandarizado. Se administrarán una dosis alta y una dosis baja.

En el ensayo participarán el Consorci Sanitari Integral - Hospital Dos de Maig, Hospital Universitario 12 de Octubre, Centro de Oftalmología Barraquer, Institut Català de Retina – ICR, Centro Médico Teknon - Institut de la Màcula, Hospital Provincial de Conxo - Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Clínica Oftalvist, Clínica Universidad de Navarra, Hospital Universitario Reina Sofía, Hospital La Arzuzafa, Hospital Universitario Puerta de Hierro, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Hospital Universitari General de Catalunya, Hospital Universitario Fundación Jimenez Díaz y Clínica Baviera de Madrid.



Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

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

AAVCAGsCD59 es un vector AAV recombinante en el que los genes *rep* y *cap* del AAV silvestre se sustituyen por el casete de expresión hCD59. De esta forma, AAVCAGsCD59 es incapaz de replicarse de forma independiente, incluso en presencia de un virus auxiliar.

-Riesgo de generación de AAVcr como resultado de eventos de recombinación ocurridos durante el proceso de fabricación.

La probabilidad de generar AAV competentes para la replicación mediante recombinación es baja, ya que el diseño hace que los genes *rep/cap* del plásmido de empaquetado sean demasiado grandes para empaquetarse en las cápsidas del AAV. Además, no hay regiones de homología entre el plásmido transgénico que contiene las ITR y los genes *rep/cap* que puedan facilitar la recombinación homóloga entre estos plásmidos.

La presencia de AAVcr se comprueba en cada lote de medicamento mediante un ensayo celular validado y análisis por PCR cuantitativa. Teniendo en cuenta el límite de detección de la técnica, hasta la fecha, no se han detectado AAVcr en todos los lotes analizados.

-Riesgo de generación de AAVcr como resultado de eventos de recombinación ocurridos en los pacientes tras la administración.

La generación de AAVcr en los pacientes tras la administración de AAVCAGsCD59 solo sería posible en el caso extremadamente improbable de una triple infección de la misma célula huésped por AAVCAGsCD59, el AAV silvestre y virus auxiliares, como el adenovirus o el virus del herpes simple. Sin embargo, tal evento de recombinación solo podría dar como resultado el intercambio del casete de expresión del transgén con los genes *rep* y *cap* del AAV silvestre, ya que no es posible que el genoma del AAV contenga tanto los genes *rep* y *cap* como el casete de expresión del transgén, debido a la limitada capacidad de empaquetamiento de los AAV. Además, las regiones de homología entre AAVCAGsCD59 y un posible AAV natural coinfectante se limitarían a las ITR, ya que los genes *rep* y *cap* no están presentes en AAVCAGsCD59. Esto disminuye aún más la posibilidad de una recombinación que dé lugar a AAVcr.

-Estabilidad genética

Se espera que AAVCAGsCD59 sea muy estable genéticamente. AAVCAGsCD59 se genera mediante transfección transitoria de las células HEK293 empleando plásmidos secuenciados y totalmente caracterizados. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de la segunda cadena del genoma del vector dependen de la polimerasa del ADN huésped, caracterizada por una polimerización del ADN de alta fidelidad y una actividad correctora adicional de la exonucleasa, lo que da como resultado una tasa de errores muy baja en la replicación del ADN.

Se comprueba la integridad genómica del vector AAVCAGsCD59 en el principio activo. La secuenciación del ADN del genoma del vector se realiza en el casete de expresión empaquetado mediante secuenciación de nueva generación.

Además, el principio activo y el medicamento se caracterizan mediante un amplio panel de controles durante el proceso y antes de la liberación para verificar que cumplan los criterios de aceptación.

La secuenciación de distintos lotes confirmó una coincidencia de identidad del 100 % de la secuencia del casete de expresión del vector vírico con el genoma de referencia teórico.



-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

Teniendo en cuenta los datos publicados sobre los estudios de biodistribución de ensayos con AAV en seres humanos, tras la inyección subretiniana de AAVr, puede producirse un transporte anterógrado y transináptico de pequeñas cantidades del genoma del vector desde la retina hasta las estructuras visuales centrales. Se considera que lo más probable es que se deba a la transducción de células ganglionares de la retina fuera de la diana tras el reflujo de la suspensión del vector en el vítreo. Dado que es probable que solo lleguen al cerebro pequeñas cantidades de vector y que se utilice un promotor específico de los fotorreceptores de conos, la probabilidad de que la expresión del transgén cause toxicidad en el cerebro se considera muy baja.

En estudios clínicos previos de vectores AAV2 administrados en la retina se pudo detectar la excreción del vector en lágrimas y en muestras de suero, que fueron transitoriamente positivas, pero esto se resolvió a los pocos días de la intervención.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

El transporte interno se realizará de acuerdo con las directrices de cada centro que participa en el ensayo, pero se recomienda que el transporte se realice en un contenedor cerrado que sea fácil de descontaminar, a prueba de roturas y fugas.

La preparación será realizada usando una técnica aséptica de acuerdo con la práctica habitual de los centros y siguiendo el manual de preparación del producto en investigación, bajo medidas de bioseguridad para riesgo tipo 1.

El personal médico seguirá las medidas higiénicas hospitalarias estándar y usará el equipo de protección individual hospitalario estándar, como batas y guantes.

Se utilizarán detergentes y métodos validados apropiados, incluido el tiempo de contacto adecuados, para la descontaminación y desinfección después de la administración de AAV o en caso de derrame accidental. Los AAV se inactivan fácilmente con varios desinfectantes, como hipoclorito de sodio al 0,5 %, peroximonosulfato de potasio al 0,45 % (tiempo de contacto de 1 a 5 minutos respectivamente), ácido peracético al 0,25 %, lejía yodada al 10 % y yodo (1 %) (tiempo de contacto de 5 o 30 minutos). Los AAV también se inactivan en autoclave durante 30 minutos a 121 °C).

Los restos del producto acabado se tratarán conforme a los procedimientos de los centros hospitalarios como residuos con riesgo biológico.

Los residuos que contengan el vector AAV modificado genéticamente o que hayan estado en contacto con el vector AAV modificado genéticamente durante su preparación y administración se eliminarán como residuos hospitalarios con riesgo biológico.

El promotor considera que no es necesario informar al paciente sobre recomendaciones para evitar la diseminación del OMG, teniendo en cuenta las características del OMG y la evaluación del riesgo realizada.

Las muestras se conservarán en un recipiente cerrado en el centro. El promotor indica que el análisis de las muestras se realizará en laboratorios externos, no en los centros que participan en el ensayo.

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.

La CNB recomienda que se informe a los pacientes que no se toquen los ojos y que deben mantener medidas higiénicas, como el lavado de manos frecuente, al menos las 48 horas posteriores a la administración del medicamento en investigación.

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), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 marzo 2023