



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE VIRUS ADENOASOCIADOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/22/06)

Título del ensayo clínico

Estudio clínico en fase 1b sobre el vector intravenoso AAVrh10 que expresa GALC en pacientes con enfermedad de Krabbe previamente tratados con trasplante de hemocitoblastos (REKLAIM), del promotor Forge Biologics, Inc.

Características del organismo modificado genéticamente

El OMG, FBX-101, es un vector viral adenoasociado deficiente en replicación, del serotipo rhesus 10 (AAVrh.10) que expresa el gen de la galactocerebrosidasa humana (hGALC). El vector consiste en un ADN monocatenario dentro de una cápside proteica.

La proteína hGALC codificada por el transgén es una enzima lisosomal responsable del catabolismo normal del componente galactolipídico de la mielina.

Un defecto en el gen *GALC* causa la enfermedad de Krabbe. Este defecto genético significa que no se produce suficiente cantidad de galactocerebrósido beta-galactosidasa (galactosilceramidasa). El cuerpo necesita esta enzima para producir la mielina que rodea y protege las fibras nerviosas. Sin esta enzima, la mielina se descompone, las neuronas mueren y los nervios en el cerebro y otras zonas del cuerpo no funcionan adecuadamente.

El vector viral está pseudotipado, es decir, la cápside deriva de AAVrh.10 y el ADN consiste en las repeticiones virales terminales invertidas (ITR) del AAV2 que flanquean un casete de expresión compuesto por el potenciador/promotor del citomegalovirus (CMV) y el ADNc de GALC humano con una señal de iniciación de la traducción optimizada antes del codón de iniciación, seguida de la poliA de la β -globina de conejo.

La producción de FBX-101 implica la cotransfección de células Ignition™ HEK293 en suspensión con tres plásmidos:

1. Plásmido transgénico portador del casete de expresión entre las ITR del AAV2 y la señal de encapsidación Ψ .
2. Plásmido de cápside/AAV que codifica los genes *rep* de AAV2 y de la cápside (*cap*) de AAVrh10.
3. Plásmido auxiliar que contiene los genes auxiliares del adenovirus del serotipo 5.

Características del ensayo

El promotor propone un período para la liberación de noviembre de 2022 hasta mayo de 2027.

En el ensayo participará el Hospital Sant Joan de Déu.

La posología depende del peso corporal del paciente. Unos pacientes recibirán una dosis baja y otra dosis alta (aproximadamente 3× dosis baja). Todos los pacientes recibirán una sola perfusión por vía intravenosa en una vena de una extremidad.



Se espera que el OMG se excrete por los líquidos biológicos en cantidades muy pequeñas durante los días siguientes a su administración. Se espera que al cabo de 90 días los resultados de la diseminación clínica sean negativos. Se analizará muestras de suero, saliva, orina y heces de todos los pacientes tratados según el protocolo del ensayo clínico. Se obtendrán muestras 1, 2, 7, 14, 21, 30, 60, 90 y 120 días y 6, 9, 12, 18 y 24 meses después de la administración del OMG. Se analizará hasta que se obtengan 2 resultados negativos consecutivos para cada matriz.

Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación

El vector viral FBX-101 ha sido diseñado para eliminar todos los genes AAV naturales, excepto las ITR, e insertar un casete de expresión génica para el transgén recombinante de interés. Debido a la ausencia de genes virales (genes *rep* y *cap*), el OMG no puede replicarse, incluso en presencia de un virus auxiliar (como el adenovirus o el herpesvirus). La estabilidad y la identidad del genoma se confirman mediante la digestión con enzimas de restricción y secuenciación, lo que garantiza que no se haya producido ninguna recombinación que pueda conferir capacidad replicativa.

Para detectar la presencia de AAV con capacidad replicativa (rcAAV) en el momento de la liberación del producto final, se realizan ensayos de amplificación en cultivo de células HEK293 y qPCR para la secuencia de *rep* de AAV2, verificando que la cantidad detectada cumpla con las especificaciones establecidas.

-Estabilidad

Se espera que la estabilidad genética de FBX-101 sea equivalente a la del AAV de tipo silvestre. Existe una pequeña posibilidad de recombinación genómica homóloga espontánea en la naturaleza entre los genomas virales de las cepas de AAV si el organismo huésped es coinfectado por 2 cepas diferentes de AAV y un virus auxiliar. A excepción de la recombinación homóloga, que se cree que se ha producido entre el serotipo 2 del AAV y el serotipo 3 del AAV generando un virus híbrido AAV2/3, no se ha observado ninguna otra recombinación en otros serotipos de AAV. Por tanto, solo en circunstancias excepcionales, cuando una célula es infectada simultáneamente por 2 serotipos diferentes de AAV y un virus auxiliar, las condiciones serían apropiadas para que se produjera dicha recombinación. Por lo tanto, se espera que FBX-101 sea altamente estable desde el punto de vista genético. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de la segunda cadena del genoma del vector dependen de la polimerasa ADN del huésped, lo que conduce a una tasa de error muy baja en la replicación del ADN.

Como parte de la liberación del producto para confirmar la identidad y la integridad del genoma se realizará secuenciación NextGen y análisis con enzimas de restricción.

-Biodistribución y excreción del vector clínico (Shedding).

Aún no existen datos que describan la excreción del vector FBX-101 en los entornos no clínicos o clínicos. Además, no hay datos publicados sobre la excreción del vector AAVrh10 administrado por vía intravenosa en el ámbito clínico; no obstante, se puede predecir que se comportará de forma similar al AAV9 y al AAV8 debido a las similitudes en los perfiles de biodistribución e inmunogenicidad. Además, el AAVrh10 es un miembro del subtipo E de los AAV y está filogenéticamente relacionado con el AAV8, por lo que cabe esperar que se comporte de forma similar. A pesar de la falta de datos publicados sobre el AAVrh.10, en otros estudios clínicos que



utilizan terapias génicas con AAV8 y AAV9 administrados sistémicamente se han evaluado los perfiles de excreción del vector. En estos estudios se detectó la eliminación de los vectores virales a través de saliva, heces y orina durante un tiempo determinado. A partir de esta información se espera que FBX-101 se elimine en los fluidos corporales en niveles bajos durante 30 y 90 días después de la infusión intravenosa del OMG. La eliminación del OMG al medio ambiente se analizará en el suero, la saliva, la orina y las heces de todos los pacientes tratados según el protocolo del ensayo clínico. Las muestras se recogerán los días 1, 2, 7, 14, 21, 30, 60, 90, 120 y los meses 6, 9, 12, 18 y 24 después de la administración del OMG y se analizarán para detectar y cuantificar mediante PCR la presencia del OMG. Las muestras se analizarán hasta que se obtengan dos resultados negativos consecutivos.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El personal encargado de la recepción del vector viral estará entrenado en los procedimientos del estudio, así como en el manejo de OMG y material biopeligroso de riesgo tipo 2. Se utilizarán guantes dobles, gafas de seguridad, bata de aislamiento desechable y manguitos o sujeción de los guantes sobre las mangas de la bata de laboratorio durante el proceso de recepción de la medicación.

La preparación de la medicación se realizará en una cabina de seguridad biológica de clase II, utilizando como mínimo bata de un solo uso, protector ocular, mascarilla quirúrgica, guantes, gorro y polainas. La limpieza se realizará con TRISTEL según el protocolo de limpieza del producto. 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%.

El medicamento será transportado a temperatura ambiente una vez esté cargado y preparado usando los kits de infusión proporcionados por el promotor. Para el transporte al lugar de administración, en una habitación individual del hospital, se introducirá/n el/los kit/s de infusión con el medicamento cargado en una bolsa con cierre hermético que luego se colocará dentro de una segunda bolsa con cierre y, finalmente, en un contenedor resistente a derrames marcado con un símbolo de riesgo biológico y OMG.

Los kits de infusión, bolsas y contenedor secundario serán monitorizados para detectar cualquier derrame o fuga.

La administración del medicamento será llevada a cabo en la habitación individual del paciente. Se utilizará bata de un solo uso, protector ocular, mascarilla quirúrgica, guantes, gorro y polainas. Para la limpieza de superficies contaminadas se utilizarán bayetas desechables de un solo uso, y se realizará un proceso de descontaminación con Oxivir H+ de acuerdo con los procedimientos internos.

En caso de derrame, se utilizará un kit de recogida habitual (Meliseptol, que incluye cobertura para Adenovirus) y el protocolo establecido internamente para este tipo de productos.

Todos los materiales utilizados para la administración del medicamento, incluidas las gasas estériles y las agujas en contacto con el OMG, deben sellarse en contenedores primarios y secundarios a prueba de fugas. Todos los residuos sólidos deben embolsarse dos veces en bolsas con el símbolo de riesgo biológico, sellarse con cinta adhesiva y procesarse como material biopeligroso. Los desechos líquidos se descontaminarán usando un desinfectante químico apropiado o se esterilizarán en autoclave.

Las muestras biológicas que potencialmente podrían contener OMG serán procesadas en el laboratorio clínico y los residuos serán eliminados en contenedores de riesgo biológico.

Los cuidadores de los participantes en el ensayo clínico recibirán instrucciones en relación con las medidas y precauciones que deben tomarse para evitar la diseminación del OMG.



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), 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 1 de junio de 2022