

## **1. Titre de l'étude clinique**

Étude de phase 3 ouverte, à un seul bras, destinée à évaluer l'efficacité et la sécurité du BMN 270, un vecteur viral adéno-associé pour le transfert de gène du facteur VIII humain chez des patients atteints d'hémophilie A ayant des taux de base de FVIII  $\leq 1$  UI/dl et recevant des injections de FVIII en prophylaxie (Numéro de protocole : 270-301)

Étude de phase 3 ouverte, à un seul bras, destinée à évaluer l'efficacité et la sécurité du BMN-270, un vecteur viral adéno-associé pour le transfert de gène du facteur VIII humain à une dose de 4E13 vg/kg chez des patients atteints d'hémophilie A ayant des taux de base de FVIII  $\leq 1$  UI/dL et recevant des injections de FVIII en prophylaxie (Étude 270-302)

## **2. Période de dissémination proposée**

Du 31 mai 2019 à juin 2019

## **3. Nom de la société**

BioMarin Pharmaceutical Inc.

## **4. Contexte**

L'hémophilie A (HA) est un trouble hémorragique récessif lié au chromosome X qui touche environ 1 homme sur 5 000. Ce trouble est causé par une défaillance de l'activité du gène de facteur de coagulation VIII (FVIII) qui code la protéine FVIII, un cofacteur essentiel de la voie de coagulation. Ce trouble est soit héréditaire soit un processus immunologique acquis, et entraîne une insuffisance quantitative de FVIII ou un dysfonctionnement du FVIII, qui mène finalement à un processus de coagulation défaillant. Le phénotype clinique des patients HA est généralement en étroite corrélation avec l'expression du niveau de FVIII résiduel. Les manifestations cliniques de l'HA sévère sont des épisodes de saignement spontané fréquents, essentiellement au niveau des articulations et des tissus mous, avec un risque significativement supérieur de décès par hémorragie lorsque le cerveau est touché. Les sujets atteints d'une forme modérée de la maladie peuvent présenter des symptômes similaires à ceux observés chez les patients atteints de HA sévère, ayant pour résultat un phénotype hémorragique comparable.

BioMarin Pharmaceutical Inc. développe actuellement une thérapie génique expérimentale AAV5-hFVIII-SQ (BMN270), un vecteur de thérapie génique basé sur un AAV5 qui exprime la forme SQ du facteur humain FVIII (hFVIII) sous le contrôle d'un promoteur hybride spécifique pour le foie humain, afin de fournir au foie la séquence encodant le hFVIII. L'AAV5-hFVIII-SQ sera administré par dose intraveineuse unique et est conçu pour atteindre une expression stable, potentiellement à vie du facteur hFVIII-SQ actif dans le plasma, synthétisé à partir du tissu hépatique transduit par le vecteur.

## **5. Informations relatives à l'organisme génétiquement modifié (OGM)**

### **5.1 Organisme récepteur :**

Virus adéno-associé de stéréotype 5 (AAV5)

### **5.2 Organisme donneur :**

Numéro de protocole : 270-301/270-302

Informations publiques datées du 12 février 2019

Traduction de l'anglais au français pour la Belgique datée du 14 février 2019

Page 1 sur 5

La séquence insérée est celle du gène humain pour le facteur de coagulation VIII sous le contrôle d'un promoteur spécifique pour le foie.

### 5.3 Méthodes utilisées pour la modification génétique

Les plasmides ont été constitués à l'aide de techniques de biologie moléculaire standard pour une excision et ligature précises des éléments constitutifs en utilisant des enzymes de restriction spécifiques suivies de la transduction et de l'amplification des cellules bactériennes à chaque étape.

### 5.4 Organisme génétiquement modifié obtenu

AAV5-hFVIII-SQ est un vecteur constitué du virus adéno-associé de stéréotype 5 (AAV5) recombinant et inapte à la réplication qui contient un génome ADN, hFVIII-SQ.

La conséquence des modifications génétiques est d'éliminer les séquences codant les gènes Rep et Cap du virus, ce qui entraîne la perte de capacité de réplication, et l'insertion de la cassette d'expression de transgènes de facteur humain VIII conduisant à l'expression du hFVIII-SQ fonctionnel dans le foie.

Le fait qu'AAV5-hFVIII-SQ est inapte à la réplication même en présence d'un virus assistant, étant donné que 94 % du génome viral est absent, constitue une nouvelle caractéristique. Une autre nouvelle caractéristique est le fait que si AAV5-hFVIII-SQ pénètre une cellule, il est incapable de s'intégrer dans le génome car les séquences responsables de l'intégration ont été supprimées.

## **6 Description de l'étude clinique**

La dissémination de l'OGM sera effectuée dans le cadre des études cliniques portant les numéros de protocole 270-301 et 270-302. Ces deux études sont des études ouvertes de phase 3 à bras unique visant à évaluer si, pour un échantillon élargi, AAV5-hFVIII-SQ peut altérer en toute sécurité le phénotype clinique des patients atteints d'hémophilie A avec une activité du FVIII résiduel  $\leq 1$  IU/dl.

La préparation et l'administration du produit expérimental seront effectuées par du personnel qualifié autorisé dans les centres de dosage de l'étude à Louvain, Bruxelles et Edegem.

La surveillance des effets directs et indirects d'AAV5-hFVIII-SQ chez les sujets sera assurée à l'aide d'évaluations cliniques définies dans le protocole d'essai clinique. Les investigateurs de l'étude surveilleront les sujets tout au long du traitement et signaleront les événements indésirables conformément aux exigences stipulées dans le protocole. La surveillance se poursuivra tout au long de la participation des sujets à l'étude, incluant une période de suivi de sécurité de 5 ans.

L'excrétion du vecteur sera surveillée à plusieurs moments précis après l'administration à l'aide d'un test PCR.

## **7 Évaluation des risques éventuels sur la santé humaine et l'environnement**

AAV5-hFVIII-SQ est un vecteur de virus adéno-associé de stéréotype 5 (AAV5) recombinant et inapte à la réplication qui contient un génome ADN codant pour la forme SQ de la protéine facteur humain VIII. L'utilisation prévue se limite à 3 centres hospitaliers et le nombre de patients à traiter est limité (7 patients au maximum seront traités en Belgique dans l'étude 270-301 et 3 patients au maximum seront traités dans l'étude 270-302).

Le virus AVV est déjà largement répandu au sein de la communauté et ne provoque aucune maladie. L'AVV répond à la définition des agents biologiques du Groupe de risque 1 conformément à la Directive 2000/54/CE (« agent biologique peu susceptible de provoquer des maladies humaines »).

L'exposition à l'AAV5-hFVIII-SQ ne devrait entraîner aucun effet délétère sur la santé humaine ou sur celle d'autres espèces, ni sur l'environnement. Bien que cela soit peu probable, si une personne est accidentellement exposée, la dose reçue serait d'un ordre de grandeur inférieur à la dose inefficace utilisée dans la première étude sur l'homme portant sur l'AAV5-hFVIII-SQ actuellement en cours (Étude 270-201). Il convient de noter que le sujet ayant reçu AAV5-hFVIII-SQ à cette dose inefficace n'a souffert d'aucun événement indésirable.

AAV5-hFVIII-SQ est un virus inapte à la réplication issu d'AAV5. Les modifications génétiques n'affectent pas son hôte naturel ni le tropisme tissulaire. Aucun transfert de matériel génétique entre l'OGM et d'autres organismes n'est prévu.

Le transfert de matériel génétique se limite à l'échange génétique théorique d'ADN par recombinaison homologue avec le virus AVV sauvage, qui ne peut se produire qu'en cas d'infection simultanée des cellules humaines par le virus AVV sauvage et AAV5-hFVIII-SQ, en présence d'un virus assistant. Dans le cas d'AAV5-hFVIII-SQ, une telle recombinaison ne peut aboutir qu'à l'échange de la cassette d'expression du facteur hFVIII-SQ avec les gènes Rep et Cap du virus sauvage. Il est impossible pour le génome AVV de contenir à la fois les gènes Rep/Cap et le transgène, étant donné que cela dépasse la limite d'encapsulation du virion.

Par conséquent, le seul mécanisme pouvant impliquer la mobilisation du transgène serait une triple infection de la même cellule par AAV5-hFVIII-SQ (contenant le transgène), le virus AVV sauvage (fournissant les fonctions Rep et Cap) et un virus assistant. Un tel scénario est considéré comme un événement rare, et entraînerait uniquement la production d'un AVV plus sauvage et plus de particules de vecteur AAV5-hFVIII-SQ (auquel il manquerait encore de gènes Rep et Cap et, par conséquent, ne serait pas autonome).

Si AAV5-hFVIII-SQ pénètre une cellule, il est incapable de s'intégrer dans le génome car les séquences responsables de l'intégration ont été supprimées. L'intégration du génome AAV5-hFVIII-SQ n'a pas encore été évaluée expérimentalement. Des études approfondies portant sur les vecteurs AAV2, AAV1, AAV8, et AAV5 chez les rongeurs (lapins, primates non humains et sujets humains ayant reçu du Glybera - un produit de thérapie génique approuvé) ont conduit à l'hypothèse que la fréquence d'intégration des vecteurs AVV est d'un ordre de grandeur plusieurs fois inférieur au taux spontané de mutation des génomes humains. Par conséquent, la probabilité de mutagenèse insertionnelle par les vecteurs AVV est très faible, bien qu'aucune étude de carcinogénicité n'ait été menée.

Le seul mécanisme qui permettrait au vecteur de s'insérer dans le gène d'une cellule serait une recombinaison homologue entre le gène FVIII endogène et la séquence codante du FVIII du vecteur. Ce risque très théorique de recombinaison entre le vecteur et le gène FVIII endogène se limiterait à une division des cellules due aux mécanismes acceptés de recombinaison homologue pendant la réplication ADN. Par conséquent, le risque réel d'insertion du vecteur dans le gène d'une cellule quelconque est bien inférieur au taux de mutation spontanée des gènes humains.

Compte tenu du type d'administration du produit (par intraveineuse) et des niveaux transitoires/faibles d'excrétion prévus, le risque d'une exposition accidentelle des humains et

autres biotes à l'AAV5-hFVIII-SQ est minime. La quasi-totalité du faible niveau de génomes de vecteur présents dans les fluides corporels semblent associés à une cellule, et ne sont pas des particules libres de vecteur. Une transmission horizontale des génomes infectieux aux autres est donc encore moins probable. De même, aucun des génomes du vecteur n'est détecté dans le sperme, donc il n'y a pas de probabilité de transmission verticale. Par ailleurs, sur la base de la construction du vecteur, l'on considère que la construction du vecteur AAV5-hFVIII-SQ a été élaborée de façon appropriée avec des caractéristiques telles que le vecteur viral adéno-associé a subi une atténuation suffisante, entraînant la suppression de la capacité d'infection, de réplication ou de survie des vecteurs à l'extérieur du corps humain.

La préparation et l'administration d'AAV5-hFVIII-SQ seront effectuées dans un environnement hospitalier approuvé. Seul du personnel qualifié et familiarisé aux procédures permettant de minimiser une exposition indue du personnel ou de l'environnement se chargera de la préparation, de la manipulation et de l'élimination en toute sécurité d'AAV5-hFVIII-SQ.

Tout le matériel jetable (comprenant entre autre les gants, masques, seringues, aiguilles, cathéters et tubes) entrant en contact avec le produit expérimental sera éliminé comme des déchets biologiques dangereux, conformément aux réglementations nationales et régionales relatives aux déchets dangereux et sanitaires. Ce matériel sera éliminé dans des conteneurs accrédités pour produits contaminés solides ou tranchants, et décontaminé par incinération ou dans un autoclave à vapeur saturée utilisant des cycles à vide fractionné validés par une société autorisée de gestion de déchets dangereux.

Les flacons utilisés totalement ou partiellement, en tant que matériel biologique dangereux, seront détruits immédiatement ; et la comptabilité du traitement sera effectuée à partir des formulaires de comptabilités. Tout AAV5-hFVIII-SQ inutilisé devra être conservé dans le centre de dosage à des fins de comptabilisation et de surveillance du médicament expérimental. Le matériel non utilisé sera éliminé en tant que matériel biologique dangereux, suivant la même procédure que celle indiquée ci-dessus. Le matériel, les équipements et les surfaces non jetables seront décontaminés par vaporisation de désinfectants à large spectre dont l'activité contre des virus non-enveloppés est prouvée. Des solutions telles que le Surfa' safe Spray (chlorure de didécyl-diméthylammonium) ou l'Umonium (chlorure de benzalkonium, alcool isopropylique et alcool laurique-myristique) peuvent être utilisées.

Le risque de dissémination du vecteur en dehors du lieu d'administration du ME est négligeable. La seule voie plausible pouvant entraîner un préjudice serait par une exposition accidentelle des personnes chargées des manipulations de l'OGM. Cette éventualité est considérée comme improbable ou hautement improbable. Une exposition accidentelle ne peut se faire que par le biais d'une lésion cutanée (par ex. piqûre) ou par l'exposition à des aérosols non confinés. Le personnel chargé des opérations portera des tabliers, des gants, des lunettes de protection et des masques chirurgicaux, et l'OGM sera doublement confiné ou sera préparé pour les injections dans des infrastructures/environnements cliniques appropriés. Aucun autre OGM ne sera manipulé par le personnel dans l'espace de travail pendant la conduite de telles opérations. Les laboratoires chargés du traitement des échantillons cliniques (sanguins, etc.) prendront les précautions standards pour les fluides corporels.

Le seul cas probable d'une dissémination inopinée de l'OGM serait un déversement pendant la préparation ou l'administration du produit étudié. La dissémination serait toujours confinée dans la pièce où le déversement se serait produit. En cas de déversement du produit expérimental ou de

sa dispersion d'une autre façon pendant la préparation ou l'administration, les procédures décrites dans le Manuel de la pharmacie de l'Étude distribué aux centres de dosage devront être appliquées conformément aux pratiques standard de nettoyage des déversements de déchets biologiques dangereux, similaires à celles prévues pour les éventuels pathogènes à diffusion hémato-gène.

- Signaler l'évènement aux autres personnes présentes et isoler la zone.
- Si ce n'est pas déjà le cas, revêtir les équipements de protection individuelle : tabliers jetables, gants, masque facial de protection contre les particules et lunettes de sécurité, écran facial ou lunettes de protection.
- Ramasser tous les éventuels morceaux de verre ou tranchants à l'aide de forceps ou d'un outil adapté, et les jeter dans un conteneur pour objets tranchants.
- Décontaminer la zone de déversement :
  - o Recouvrir le déversement d'un matériau absorbant.
  - o Ajouter une solution désinfectante sur le matériau absorbant et laisser absorber.
  - o Essuyer le déversement et jeter le matériau absorbant dans un sac pour déchets infectieux pour élimination.
  - o Laver la zone à l'aide de désinfectants à large spectre dont l'activité contre des virus non-enveloppés est prouvée, et éliminer la totalité du matériel jetable usagé comme des déchets biologiques.

La recherche menée dans un tel cadre atténue de façon adéquate les risques de préjudice pour la santé publique et l'environnement.