



GENimmune N.V.

Technologiepark 6 - 9052 Zwijnaarde – Belgium

Notification de Dissémination Volontaire d'OGM

INFORMATION POUR LE PUBLIC¹

**ETUDE MULTICENTRIQUE PHASE I EVALUANT LA SECURITE ET LA
TOLERANCE D'UNE VACCINATION HETEROLOGUE PRIME-BOOST
PAR INX102-3697 HBV PDNA / INX102-0557 HBV MVA CHEZ DES
VOLONTAIRES SAINS ET DES PATIENTS ATTEINTS D'UNE
HEPATITE B CHRONIQUE HBeAg+**

**Numéro Européen de la Notification
B/BE/07/BVW3**

¹ *Ce document est rédigé selon les indications du "Guidelines To Compile The Public Dossier - Deliberate releases of genetically modified micro-organisms for experimental purposes (part B)" du Conseil Consultatif de Biosécurité (version du 26 février 2003). Textes obligatoires sont indiqués en italique.*

TABLE DES MATIERES:

1	CADRE RÉGLEMENTAIRE ET PROCÉDURE D'AUTORISATION.....	3
2	DESCRIPTION DU MICRO-ORGANISME GENETIQUEMENT MODIFIE (MOGM).....	3
3.	TYPE ET OBJECTIFS DES ESSAIS CLINIQUES ENVISAGES.....	4
4.	CADRE DE RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT	4
5.	BENEFICES POTENTIELS DE LA LIBERATION PLANIFIÉE	5
6.	EVALUATION DES RISQUES POTENTIELS POUR LA SANTE HUMAINE ET L'ENVIRONNEMENT	5
7.	RESPONSABILITÉS DU NOTIFIANT	7
8.	INSPECTION PAR LES AUTORITÉS PUBLIQUES	7
9.	RAPPORT D'ACTIVITÉS	7
10.	CONTACT	7

1 CADRE RÉGLEMENTAIRE ET PROCÉDURE D'AUTORISATION

La dissémination volontaire d'organismes génétiquement modifiés (OGMs) dans l'environnement est strictement réglementée au niveau européen par la directive 2001/18/CE du 12 mars 2001 abrogeant la directive 90/220/CEE et au niveau belge par l'Arrêté Royal du 21 février 2005 réglementant la dissémination volontaire dans l'environnement ainsi que la mise sur le marché d'organismes génétiquement modifiés ou de produits en contenant abrogeant l'Arrêté Royal du 18 décembre 1998.

Pour garantir l'utilisation sans risque d'OGMs, la loi stipule entre autres que la dissémination volontaire d'OGMs à titre expérimental est interdite sans l'autorisation préalable écrite du ministre compétent. L'octroi d'un accord dépend d'une évaluation minutieuse de la biosécurité de la dissémination projetée à faire par le Conseil de Biosécurité, qui est composé de différents Comités Scientifiques, regroupant des experts indépendants d'universités belges et d'instituts gouvernementaux.

*Afin d'obtenir l'autorisation nécessaire du ministre compétent, la société GENimmune N.V. a introduit un dossier de demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente. Sur base de l'avis du Conseil de Biosécurité le ministre compétent pourrait autoriser GENimmune N.V. à faire des expériences sur le "modified vaccinia virus Ankara" transgénique, comme décrites dans la demande **B/BE/07/BVW3**.*

La dissémination est prévue en Flandre / en Wallonie / à Bruxelles en conséquence des essais cliniques conduites au Centre Hospitalier Universitaire Brugmann, Brussels; Cliniques Universitaires Saint-Luc, Brussels; Drug Research Unit Ghent (D.R.U.G.) Gent; SGS Life Science Services - Research Unit Stuivenberg, Antwerpen; Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Antwerpen; Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels; Universitair Ziekenhuis Gasthuisberg, Leuven, et Universitair Ziekenhuis Gent, Gent. Les essais se dérouleront du mois de mars 2008 au mois de mars 2010.

2 DESCRIPTION DU MICRO-ORGANISME GENETIQUEMENT MODIFIE (MOGM)

L'MOGM est un vaccin thérapeutique à base de polyépitopes, développé pour traiter des patients atteints d'une hépatite B chronique.

Le gène en question est un gène assemblé de façon artificielle, comportant plusieurs copies de fragments courts d'ADN, codant pour des peptides (épitopes) qui ont la capacité d'induire une réponse immunitaire envers le VHB. L'insert génétique codant pour des polyépitopes spécifiques au VHB est présenté soit par un plasmide (INX102-3697 HBV pDNA), soit par un vecteur viral, étant le virus modified vaccinia Ankara (MVA) (INX102-0557 HBV MVA).

Le virus vaccinia a servi largement à vacciner contre et à éradiquer la variole. Le MVA est une forme fortement atténuée, dérivée d'un virus chorioallantoïde vaccinia isolé à Ankara, d'où son nom. Durant le processus d'atténuation, après plusieurs passages dans des fibroblastes d'embryon de poulet, MVA a perdu environ 15% de son génome (et par conséquent de son information génétique), y compris des fonctions spécifiques régulant le domaine de l'hôte viral et étant responsable de l'évasion de la réponse immunitaire de l'hôte. Par conséquent, la réplication du MVA est extrêmement limitée dans les cellules humaines. Un avantage de sécurité considérable de MVA est le fait que le virus n'achève pas son cycle de réplication jusqu'au bout dans des cellules non-permissives (humaines) ce qui résulte en une accumulation de virus immatures. Partant, il est peu probable que l'injection de MVA résulte dans la production de particules virales matures et infectieuses dans des cellules humaines.

Suite à l'injection, l'OGM MVA exprimera uniquement de façon transitoire le polyépitope VHB. Le produit génétique est destiné à induire une réponse immunitaire dans une population assez large, mais n'a cependant aucune activité d'enzyme propre. La protéine produite sera ensuite rapidement dégradée et termine en dégradation, évitant son accumulation.

Le plasmide recombiné contient également un gène de résistance à certains antibiotiques aminoglycosides (par exemple la kanamycine). Le gène est exprimé dans *Escherichia coli* lors de la production du plasmide et est nécessaire pour la sélection.

3. TYPE ET OBJECTIFS DES ESSAIS CLINIQUES ENVISAGES

La dissémination volontaire aura lieu dans le cadre d'une étude phase I en label ouvert, non randomisée, non contrôlée, multicentrique évaluant la sécurité, la tolérance et le caractère immunogène d'une vaccination hétérologue "prime-boost" d'injections alternées par voie intramusculaire (IM) de INX102-3697 HBV pDNA et sous-cutanée (SC) de INX102-0557 HBV MVA.

Dans la plupart des cas, la réponse immunitaire induite par un seul dosage du vaccin est insuffisamment importante ainsi que peu tenace pour être efficace. Une administration répétitive pourrait stimuler la réponse immunitaire vis-à-vis du vaccin antigène, un phénomène connu par le terme "boost." L'approche "prime-boost" correspond à l'administration consécutive du même antigène, présenté de deux façons différentes. La présentation de l'antigène par le premier vecteur "déclenche (prime)" la réponse immunitaire; une deuxième présentation du même antigène par un second vecteur provoque un "boost" au niveau de la réponse. Cette approche est également décrite comme "heterologous boosting", contrairement à la méthode traditionnelle (homologous boosting) qui consiste en l'administration consécutive de deux ou plusieurs dosages du même vaccin. Dans cette étude le polyépitope VHB sera d'une part administré au moyen du plasmide (INX102-3697 HBV pDNA) et d'autre part au moyen du vecteur MVA (INX102-0557 HBV MVA).

L'objectif de l'étude sera l'évaluation de la sécurité, la tolérance et le caractère immunogène du vaccin.

Dans la première partie de cette étude, 15 volontaires sains seront vaccinés. S'il est confirmé que le vaccin est sûr et tolérable, une seconde partie sera initiée qui consistera en la vaccination de 15 patients atteints d'une hépatite B chronique HBeAg+.

Les participants recevront 5 injections d'une solution contenant soit le plasmide soit le virus MVA recombiné. Un écart de 3 semaines est prévu entre chaque administration. Par formulation, une dose est prévue. Les participants de l'étude seront informés sur le type est contenu du médicament expérimental (étude en label ouvert).

Les patients seront sélectionnés à base de critères très stricts. Afin de recruter le nombre de patients envisagé, une approche multicentrique s'avère nécessaire.

Une étude Phase 1 mono centrique antérieure avec le plasmide INX102-3697 HBV pDNA a montré que ce produit s'est avéré inoffensif et a été bien toléré. Jusqu'à présent INX102-0557 HBV MVA n'a pas encore été soumis à une évaluation dans le cadre d'une étude clinique. Néanmoins, plusieurs études avec le virus MVA à fins similaires se sont déroulées en Europe et ailleurs dans le monde. Tous les résultats confirment que le vecteur MVA est promettant et permet une application médicale sûre.

4. CADRE DE RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT

L'hépatite B est une inflammation du foie causée par le virus de l'hépatite B (VHB). Mondialement, plus de 350 millions personnes sont infectées et près d' 1 million de personnes en meurent chaque année. L'infection par le VHB est une maladie complexe qui peut soit guérir spontanément soit se manifester de différentes façons. Les porteurs chroniques du VHB ont un risque élevé de développer des complications à long terme, c.à.d. cirrhose, dysfonctionnement hépatique et cancer du foie. Entre 15-40% de la population souffrant d'une infection chronique le l'hépatite B sera confronté à des suites pathologiques sérieuses dans leur vie. Par conséquent, un traitement antiviral effectif joue un rôle important dans la gestion de l'hépatite chronique B et de ses complications.

Aucun des médicaments disponibles ce jour pour traiter hépatite B chronique n'arrive à éradiquer l'infection, mais ils arrivent cependant à arrêter la réplication du virus. Toutefois, quelques individus tendent plus à répondre au traitement qu'autres et des cas de résistance virale ont été observés.

Des vaccins thérapeutiques pour le traitement d'infections (virales) chroniques, telle que l'hépatite B, envisagent l'éradication de l'agent infectieux ou au moins un effet suppressif à long terme sur l'agent

infectieux. Ces vaccins nécessitent l'induction de réponses lymphocytes T cytotoxiques (CTL). Les CTL sont des cellules du genre globules blanches du sang capables de tuer des cellules infectées par un virus. Afin d'activer ces CTL, un antigène à base d'épitopes spécifiques est nécessaire tel que le polyépitope VHB dans l'étude présentée ici.

Aussi bien dans la littérature scientifique que dans les programmes de recherche de GENimmune il a été largement démontré que par le mode de vaccination hétérologue "prime-boost" une stratégie prometteuse a été introduite, capable d'induire des réponses cellulaires parmi les humains.

Une première étude clinique (Phase 1 mono centrique) avec le plasmide INX102-3697 HBV pDNA comportant un insert génétique codant pour des polyépitopes spécifiques au VHB a été conduite aux Etats-Unis. Le but de l'étude a été d'évaluer la sécurité et la tolérance de quatre injections intramusculaires administrées mensuellement à deux dosages. Aucun effet clinique significatif n'a pu être attribué au traitement. Le médicament expérimental s'est avéré inoffensif et a été bien toléré aux deux niveaux de dosage.

L'étude clinique Phase I proposée représente la première évaluation d'une application alternée d'un vaccin à base de polyépitopes présentés au moyen d'un plasmide et d'un vecteur MVA. Le principe est entièrement basé sur une expression transitoire et la transformation de cellules humaines est exclue.

5. BENEFCES POTENTIELS DE LA LIBERATION PLANIFIÉE

La dissémination prévue est la prochaine démarche dans le développement d'une nouvelle stratégie pour le traitement d'une hépatite B chronique.

Actuellement, le traitement en général réduit la charge virale dans différents ordres de grandeur. Les patients continuent à courir le risque de développer des complications causées par une infection persistante. En plus, des risques potentiels tels que des effets secondaires ou le développement d'une résistance virale et le degré personnel d'adhérence et réponse à un traitement jouent un rôle important. Le but ultime du traitement est d'éradiquer le virus avant l'occurrence de dégâts irréversibles au foie. L'approche de vaccination hétérologue "prime-boost" proposée dans cette étude est prometteur à cet égard.

6. EVALUATION DES RISQUES POTENTIELS POUR LA SANTE HUMAINE ET L'ENVIRONNEMENT

Comme le virus MVA est atténué, est limité par son hôte, et est une souche virale Pox incapable de se propager, le virus vaccinia est choisi préférentiellement pour la recherche clinique et trouve son application en tant que système de vecteur puissant dans le développement de vaccins recombinés. Les vaccins MVA recombinés ont été administrés aux humains dans le cadre d'études cliniques pour mélanomes, VHI et infections par orthopox sans effets secondaires significatifs. En Europe, plusieurs études ont été conduites avec l'OGM MVA. Tous les rapports confirment que le vecteur MVA peut être utilisé en toute sécurité et ne mène pas à une dispersion incontrôlée. Toutes ces expériences sont pertinentes dans le cadre de la dissémination proposée.

La souche MVA a plusieurs avantages en termes de sécurité. Le virus est incapable de se propager sur les cellules de mammifères (MVA se multiplie uniquement de façon efficace dans des fibroblastes primaires d'embryon de poulet et les cellules rénales d'un bébé hamster), ce qui réduit le risque de dissémination. Le virus a subi de nombreuses délétions dans son génome conduisant à un virus non pathogène pour l'homme. Le vecteur MVA ne peut pas interagir avec le génome de la cellule qu'il infecte puisqu'il reste localisé dans le cytoplasme, en dehors du noyau, ce qui limite les possibilités d'intégration. MVA reste présent jusqu'à ce que la cellule soit détruite par l'effet lytique du virus. L'expression du transgène dans l'homme est par conséquent limitée dans le temps.

Vue son atténuation, MVA est généralement classifié comme organisme de niveau biosécurité 1. La modification génétique ne change pas cela.

Dans le cadre de l'étude clinique, le component INX102-0557 HBV MVA du médicament expérimental sera disponible sous forme d'ampoule scellée contenant une solution. Le component INX102-3697 HBV pDNA du médicament expérimental sera disponible sous forme de flacons d'injection contenant une dose unique à extraire par une seringue.

La solution sera administrée par le personnel dans les services hospitaliers selon les instructions du notifiant dans une chambre d'hôpital qui répond aux conditions d'utilisation confinée d'une chambre d'hôpital niveau de biosécurité 1. L'endroit d'injection sera d'abord désinfecté. Suivant l'injection, l'endroit d'injection sera couvert par sparadrap absorbant et imperméable dont un bord restera ouvert afin de permettre l'observation de l'endroit d'injection. Le sparadrap sert à éviter l'exposition à une goutte de la solution sortant potentiellement de l'endroit d'injection. Le participant restera pour observation et suivi médical à l'hôpital pendant quatre heures. Avant que le participant quitte le centre, le sparadrap sera remplacé. Autre dissémination n'est pas attendue. Entre deux traitements, les participants peuvent poursuivre leurs activités normales. Il n'est pas prévu de donner des instructions supplémentaires par rapport à la biosécurité.

Une exposition éventuelle, en dehors des participants, est limitée au personnel de l'équipe médicale concernée: contact avec la solution de l'ampoule, seringue ou sparadrap, ou accidentellement via une blessure causée par un flacon brisé, une ampoule ouverte ou une aiguille. Le risque d'une telle exposition sera extrêmement limité étant donné que l'équipe médicale portera des vêtements de protection tels que des gants et tabliers jetables. Tous les déchets seront décontaminés et détruits conformément aux procédures locales pour déchets médicaux dangereux. En cas de déversement, les procédures de routine pour désinfection stérilisation seront appliquées. L'équipe médicale recevra des instructions spécifiques. Même si une exposition survient, une réaction significative n'est pas attendue. Tandis que l'effet du polyepitope n'est pas encore confirmé, aucune indication négative suite à une exposition n'existe. L'exposition au MVA en soi pourrait mener à une immunisation, ce qui en soi n'est pas indésirable. Le dosage et la fréquence d'administration sont sans doute trop faibles que pour avoir des conséquences. En outre, expérience extensive est disponible par rapport aux effets secondaires.

L'exposition parmi autres humains, même les proches des participants, est peu probable.

Le virus vaccinia est traditionnellement considéré comme un virus de laboratoire sans réservoir naturel. Comme MVA n'est pas capable de se répliquer dans des cellules humaines et non plus dans la plupart des cellules de mammifères hôte, le risque de dissémination et transmissions est réduit. Une étude de bio-distribution avec INX102-0557 HBV MVA dans des souris a confirmé que MVA ne persiste pas.

L'ADN de plasmide est soumis à la dégradation enzymatique dans le sang et par conséquent est métabolisé et éliminé de la circulation assez rapidement. Le parcours d'INX102-3697 HBV pDNA a été étudié dans des lapins. Le plasmide ne s'est pas intégré dans l'ADN génomique.

Un mécanisme de distribution actif est absent et la dissémination serait limitée à la chambre d'hôpital. Un transfert de gènes vers autres organismes dans l'environnement n'est pas envisagé. Dans le virus MVA l'insertion génétique codant pour le polyepitope VHB a été intégré via recombinaison homologue. Ce mécanisme de transfert se produira rarement dans la nature vue l'absence d'une souche vaccinia pertinent.

Plasmides en tant que tel ne sont pas capable de transférer du matériel génétique. Ils nécessitent l'intégration dans des mécanismes de transfert bactérien avant qu'ils ne puissent être échangés et transmis. En général, sous conditions laboratoires, beaucoup d'efforts sont requis afin de transformer bactéries avec plasmides non conjugatifs et/ou non-mobilisables. Une insertion occasionnelle de plasmide par bactéries à l'intérieur d'un être humain ou l'environnement est par conséquent peu probable. Par ailleurs, des mesures sont prises pour limiter l'exposition d'ADN plasmide aux bactéries à l'endroit de l'injection ou dans l'environnement: l'endroit d'injection sera désinfecté avant l'injection et tout déchet sera récupéré et décontaminé. Dans l'in vraisemblance d'insertion, les bactéries pourraient acquérir une tolérance temporaire à la kanamycine comme caractéristique supplémentaire. Ceci n'augmenterait pas la présence déjà répandue de ce gène codant pour une résistance antibiotique, présente dans des sources bactériennes sous conditions naturelles.

Le polyepitope VHB est un gène unique, synthétique détectable via la technique appelée réaction en chaîne par polymérase (PCR). Néanmoins, vue l'improbabilité de l'occurrence de "shedding", sauf de manière limitée à l'endroit d'injection, aucun dépistage ni suivi de l'OGM est prévu.

Cette notification concerne une dissémination volontaire d'OGM à des fins expérimentaux. Dès lors, par convention l'usage de ce matériel à d'autres fins est strictement interdit.

7. RESPONSABILITÉS DU NOTIFIANT

L'autorisation qui pourrait être accordée au notifiant par le ministre compétent, stipule que le notifiant assure la pleine responsabilité civile pour tout dommage à la santé humaine ou animale, et à l'environnement, qui résulterait de l'expérimentation projetée.

8. INSPECTION PAR LES AUTORITÉS PUBLIQUES

Des inspecteurs sont chargés du contrôle des essais du respect des conditions d'autorisation incombant au notifiant et de l'investigation des infractions éventuelles à l'autorisation. Dans le cas où une infraction ou une fraude est constatée, des sanctions spécifiques seront imposées.

9. RAPPORT D'ACTIVITÉS

A l'issue de l'essai, un rapport d'activités rédigé par le notifiant sera remis à l'autorité compétent. Ce rapport d'activités comprendra au minimum les données suivantes:

- Le lieu et la période de la dissémination,
- la nature précise des OGMs effectivement disséminés,
- l'objectif ou les objectifs des expérimentations,
- les mesures étant prises pour éviter la dissémination involontaire du matériel transgénique,
- si applicable, les mesures étant prises pour la protection du sujet (patient/animal) pendant l'administration du produit médical expérimental contenant l'OGM,
- si applicable, les mesures étant prises pour la protection des parents des patients traités,
- les mesures étant prises pour la protection des travailleurs qui ont dû manipuler le matériel contenant l'OGM,
- la méthode utilisée pour la destruction du matériel non utilisé ou contaminé,
- les résultats obtenus lors des essais,
- un résumé de la surveillance de la dissémination du produit OGM hors du patient/animal,
- un résumé de la surveillance de l'OGM ou ADN recombinant dans l'environnement.

10. CONTACT

Si vous avez des commentaires sur cette fiche d'information ou sur nos activités ou si vous voudriez obtenir des renseignements complémentaires relatifs aux essais, n'hésitez pas à nous contacter à l'adresse suivante:

Notifiant:

Nom de la société: GENimmune NV
Adresse: Technologiepark 6, 9052 Zwijnaarde, Belgium
Téléphone: +32 (0)9 329 13 29
Fax: +32 (0)9 329 17 68
Email: info@genimmune.be
Web site: www.genimmune.be

Contact:

Nom: Hilde De Winter, MD
Adresse: Technologiepark 6, 9052 Zwijnaarde, Belgium
Téléphone: +32 (0)9 329 17 38
Fax: +32 (0)9 329 17 68
Email: Hilde.de.Winter@genimmune.be

Vous pouvez aussi avoir accès au compte-rendu (SNIF) sur le site du "Joint Research Centre of the European Commission" (<http://gmoinfo.jrc.it/>). Par ce site, vous pouvez faire parvenir vos commentaires à la Commission.