

Information destinée au public

(en vertu de l'annexe VIII.A de l'arrêté royal du
21 février 2005)

AVXS-101

Table des matières

	Page
1 Cadre de développement.....	2
2 Information concernant AVXS-101	2
3 Information concernant la demande d'autorisation d'AVXS-101	3
4 Information concernant le risque potentiel d'AVXS-101 chez l'homme	5
4.1 Information concernant l'intégration potentielle d'AVXS-101 dans le génome	5
4.2 Information concernant la réplication d'AVXS-101	6
4.3 Information concernant l'effet escompté de l'exposition à AVXS-101	6
5 Information concernant le risque potentiel d'AVXS-101 pour l'environnement.....	9
5.1 Information concernant l'excrétion d'AVXS-101	9
5.2 Information concernant la propagation potentielle d'AVXS-101	10
6 Information concernant la décontamination de l'équipement en contact avec AVXS-101.....	11
7 Information concernant le plan de secours en cas de déversement accidentel d'AVXS-101	11
8 Information concernant des mesures de précaution supplémentaires	12
9 Date de début et de fin des études cliniques	12

1 Cadre de développement

L'objectif de ce programme de développement clinique consiste à évaluer la tolérance et l'efficacité de la thérapie génique dans le traitement de l'atrophie musculaire rachidienne (AMR). L'objectif spécifique des études cliniques consiste à évaluer l'innocuité, la tolérance et l'efficacité d'une dose unique d'AVXS-101 dans le traitement de l'AMR.

2 Information concernant AVXS-101

AVXS-101 est un produit biologique recombinant composé d'une capsidie du virus adéno-associé recombinant de sérotype 2/9 (AAV2/9) auto-complémentaire non-répliquant et non-intégrant contenant l'ADNc du gène SMN humain sous le contrôle de l'hybride de l'activateur du cytomégalo-virus (CMV)/du promoteur de l'actine bêta du poulet (CBA) ainsi que deux répétitions terminales inversées (ITR) d'ADN de l'AAV de sérotype 2 (AAV2). L'ITR de l'AAV gauche a été modifiée pour favoriser le recuit intramoléculaire du transgène, formant ainsi un transgène à double brin prêt pour la transcription. Il a été montré que l'ITR modifiée, appelée ITR auto-complémentaire, augmentait de manière significative la vitesse de transcription du transgène et de production de la protéine SMN humaine qui en résulte. Le scAAV recombinant peut être utilisé pour AVXS-101 en raison de la petite taille du gène SMN, qui permet un empaquetage et un transfert de gène efficaces avec des titres viraux plus faibles que ceux des vecteurs de l'AAV à simple brin prototypiques. L'ensemble de l'ADN de l'AAV9 de type sauvage a été retiré et remplacé par les gènes décrits ci-dessus (les deux ITR sont issus de l'AAV2). Ces modifications rendent AVXS-101 incapable de se répliquer, ce qui peut être considéré comme un avantage potentiel en matière de sécurité par rapport aux vecteurs intégrant ayant la capacité de se répliquer, car la dose totale de virus administrée à un patient peut être rigoureusement contrôlée et le risque de transmission involontaire est minime.

AVXS-101 code la protéine SMN humaine, dont la disparition semble être la cause première de l'AMR.

Le virus adéno-associé (AAV) de type sauvage est un virus à ADN simple brin avec une capsidie icosaédrique non enveloppée d'environ 25 nm de diamètre. Le génome de l'AAV a une longueur d'environ 4,7 kilobases et comprend des répétitions terminales inversées (ITR) aux deux extrémités du brin d'ADN, et deux cadres de lecture ouverts (ORF), rep et cap. L'ORF « rep » est composé de quatre gènes chevauchants codant les protéines Rep nécessaires à la réplication de l'ADN, et l'ORF « cap » contient des séquences de nucléotides chevauchantes codant les protéines de la capsidie (VP1, VP2 et VP3) qui interagissent ensemble pour former une capsidie de symétrie icosaédrique. Les répétitions terminales inversées (ITR) flanquent les deux ORF et contiennent toutes les fonctions agissant en cis nécessaires à la réplication, à l'empaquetage et à l'intégration de l'ADN dans le génome de l'hôte, et à l'excision et au sauvetage ultérieurs.

Il existe plusieurs sérotypes de virus adéno-associé. Le sérotype de l'AAV est déterminé par la capsidie du virion, qui fait partie intégrante du tropisme tissulaire et de l'efficacité de l'AAV dans l'infection.

Le virus entraîne une réponse immunitaire très légère aux doses d'exposition dans l'habitat naturel de l'homme, ce qui corrobore davantage l'absence apparente de pathogénicité.

La réplication de l'AAV de type sauvage est tributaire de la co-infection de virus helper tels que l'adénovirus ou le virus de l'herpes simplex. En présence d'un virus helper, l'AAV subit une infection productive caractérisée par une réplication du génome, une expression du gène viral et une production de virion. En l'absence de co-infection par le virus de l'herpès, l'ADN du virus persiste à l'intérieur des cellules infectées sous forme épisomique ou peut s'intégrer dans le génome de la cellule hôte. Dans les deux cas, le virus reste latent.

L'AAV est un virus non enveloppé relativement stable dans l'environnement et stable à la dessiccation. L'AAV est sensible aux désinfectants viricides appropriés, tels qu'une solution de chlore de 1 000 ppm.

3 Information concernant la demande d'autorisation d'AVXS-101

L'AMR (tous types confondus) est une maladie rare dont l'incidence annuelle est inférieure à 0,4 cas sur 10 000 personnes dans l'Union européenne (UE28). Cela correspond à un total de moins de 21 000 personnes dans l'Union européenne et ne tient pas compte de la réduction de la prévalence due à la mortalité précoce par rapport à la population générale. La cause première de l'AMR est la mutation ou délétion bi-allélique du gène *SMN1*, qui entraîne une diminution des taux de la protéine de survie des neurones moteurs (SMN), qui est essentielle à la survie des neurones moteurs. Le gène *SMN1* est le principal producteur de la protéine SMN, cette dernière étant exprimée partout dans l'organisme et jouant un rôle essentiel dans tous les tissus. Sa surexpression n'entraîne aucune toxicité. Le gène *SMN2*, qui est fortement homologue au gène *SMN1*, produit une quantité limitée de protéine SMN fonctionnelle, qui peut partiellement compenser la perte de fonction *SMN1*. En outre, il semble exister une corrélation entre la sévérité de la maladie et les taux de protéine SMN, ce qui souligne l'avantage thérapeutique potentiel de l'augmentation des taux de SMN comme stratégie de traitement de la maladie. Une intervention à un très jeune âge, avant la perte irréversible des neurones moteurs, est susceptible d'être la plus bénéfique pour les patients. Le diagnostic d'AMR repose sur l'association de l'apparition de symptômes cliniques et de l'utilisation d'un test génétique confirmant la délétion/perte de fonction des gènes *SMN1* et déterminant le nombre de copies du gène de secours *SMN2*. En général, le nombre de copies du gène de secours *SMN2* permet également de prévoir la sévérité du phénotype ; plus le nombre de copies du gène *SMN2* est élevé, moins la maladie est sévère, en général. Le gène *SMN2* produit habituellement environ 10–20 % of de protéines SMN totalement fonctionnelles en comparaison avec le gène primaire *SMN1* en raison d'un défaut d'épissage qui exclut largement l'exon 7.

La classification de l'atrophie musculaire rachidienne ou AMR est illustrée ci-dessous ([Tableau 1](#)), et les types 0 à 4 sont décrits. L'AMR est généralement classifiée selon 4 phénotypes, sur la base de l'âge d'apparition des symptômes et de la fonction motrice maximale obtenue, avec un phénotype supplémentaire (type 0) permettant de décrire les formes sévères d'AMR d'apparition prénatale.

Tableau 1 : Classification de l'atrophie musculaire rachidienne

Type	Âge d'apparition des symptômes		Fonction motrice maximale	Espérance de vie	Nbre de copies de <i>SMN2</i>
0	Foetal		Aucune	Jours – Semaines	1
1	< 6 mois	1A : N- 2 semaines 1B : < 3 mois 1C : > 3 mois	Ne s'assied jamais	< 2 ans	1, 2, 3
2	6 – 18 mois		Ne marche jamais	20 – 40 ans	2, 3, 4
3	1,5 – 10 ans	3A : < 3 ans 3B : > 3 ans	Marche, régression	Normale	3, 4, 5
4	➤ 35 ans		Lent déclin	Normale	4, 5

Source : d'après Kolb 2011

SMN2 = gène 2 de survie des neurones moteurs

Gras = nombre prédominant de copies de *SMN2*

Les patients atteints d'AMR de type 1, par définition, ne parviennent jamais à s'asseoir par eux-mêmes et présentent une hypotonie d'ici l'âge de 6 mois. L'AMR de type 1 est la principale cause génétique de décès chez le nourrisson avec une apparition des symptômes à ≤ 6 mois (Tableau 1). En revanche, l'AMR de type 2 se manifeste dans les 18 premiers mois, et les enfants atteints de cette maladie peuvent s'asseoir par eux-mêmes, mais ne sont jamais capables de marcher sans aide. Les patients atteints d'AMR de type 3 arrivent à marcher sans aide (le type 3A se manifeste entre l'âge de 18 mois et 3 ans ; le type 3B, après 3 ans). L'AMR de type 4 est une maladie qui apparaît à l'âge adulte. La cause génétique de l'AMR est bien connue et présente une forte corrélation avec le pronostic. Toutes les formes d'AMR sont à transmission autosomique récessive et causées par des délétions ou mutations du gène *SMN1*.

Des études ont démontré que la protéine SMN était essentielle à la fonction des neurones moteurs (Lefebvre et al., 1995 ; Burghes and Beattie, 2009). La carence en protéine SMN pleine longueur fonctionnelle a été attribuée à une perte sélective de neurones moteurs (Lefebvre et al., 1997), qui entraîne à son tour une faiblesse musculaire progressive, une incapacité à développer des fonctions motrices de base et finalement la mort. AVXS-101 a été développé pour transférer efficacement un gène *SMN* entièrement fonctionnel aux neurones moteurs dans le SNC et pour cibler des tissus systémiques clés. L'expression du gène exogène augmente le taux de protéines SMN fonctionnelles dans ces cellules. On s'attend à ce que les neurones moteurs présents au moment du transfert du gène et de l'expression de la protéine SMN exogène restent viables avec un potentiel de développement normalisé, interrompant ou inversant la mort cellulaire des neurones moteurs et la dénervation consécutive du muscle squelettique.

L'innocuité d'AVXS-101 a été évaluée chez des patients d'atteints d'AMR de type 1 avec une perfusion intraveineuse lors de l'étude clinique de phase I. AVXS-101 semble avoir un profil

d'innocuité favorable et être généralement bien toléré ; les patients traités ont présenté une amélioration de la fonction motrice et atteint des stades de développement supplémentaires. En outre, les patients traités à ce jour avec AVXS-101 ont présenté un meilleur état nutritionnel et ont moins eu besoin d'aide à l'alimentation (p. ex., sonde G, sonde NJ) due à une incapacité de déglutir que les patients non traités (Mendell 2017). AveXis continuera donc à développer AVXS-101 pour améliorer la progression de la maladie, prolonger la survie et retarder le recours à une assistance respiratoire chez les patients atteints d'AMR.

4 Information concernant le risque potentiel d'AVXS-101 chez l'homme

La construction du vecteur étant incapable de se répliquer, même en présence d'un virus helper, aucun nouveau virus descendant n'est produit. La pathogénicité d'AVXS-101 devrait donc être encore inférieure à celle des virus AAV2 ou AAV9, qui sont déjà considérés comme non pathogènes.

4.1 Information concernant l'intégration potentielle d'AVXS-101 dans le génome

Les données précliniques indiquent que, dans la plupart des cas, l'ADN provenant de vecteurs de l'AAV recombinants persiste principalement sous forme d'éléments extrachromosomiques (épisomes) plutôt que par l'intégration dans le génome des cellules hôtes (McCarty, et al., 2004). On ne prévoit pas qu'AVXS-101 s'intègre dans le génome des cellules hôtes comme décrit ci-dessus, mais les conséquences à long terme de l'administration de vecteurs viraux de l'AAV à des êtres humains ne sont pas encore pleinement comprises. En revanche, l'AAV de type sauvage, également non pathogène, peut s'intégrer de manière stable dans le génome des cellules hôtes sur un site spécifique (appelé AAVS1) du chromosome 19 humain (Kotin, et al., 1990 ; Surosky, et al., 1997).

Étant donné qu'AVXS-101 utilise un AAV2/9 dont l'ensemble de l'ADN de type sauvage a été éliminé des capsides, à l'exception des répétitions terminales inversées, le risque potentiel d'incorporation d'AVXS-101 dans l'ADN chromosomique du patient devrait être considérablement réduit.

Il existe des rapports contradictoires selon lesquels l'intégration du génome de l'AAV2 de type sauvage est associée à l'induction du carcinome hépatocellulaire chez un petit sous-ensemble de patients ; cependant, plusieurs études fournissent des preuves permettant de contredire ces affirmations : a) l'AAV2 a infecté environ 90 % de la population humaine, b) il a été montré que l'AAV2 possède une action anticancéreuse, c) des preuves épidémiologiques montrent que l'infection par l'AAV2 joue un rôle protecteur contre le carcinome cervical, et d) les sérotypes de l'AAV, y compris l'AAV2 et l'AAV9 recombinants, ont été ou sont actuellement utilisés dans le cadre de 162 études cliniques à ce jour, dans lesquelles aucun type de cancer n'a été observé ou signalé. Pour plus d'informations à ce sujet, voir Srivastava et Carter, 2017.

Les études précliniques étayaient davantage le risque extrêmement faible d'incorporation potentielle dans l'ADN chromosomique de l'hôte, car à ce jour, elles n'ont pas montré de développement de cancer chez les animaux traités, y compris les souris et les primates non humains exposés à AVXS-101.

4.2 Information concernant la réplication d'AVXS-101

Il est possible que le vecteur de l'AAV9 contenant le gène SMN interagisse avec d'autres virus avec lesquels les patients entrent en contact, tels que rhinovirus, adénovirus ou herpès. Dans ce cas, le vecteur de l'AAV9 pourrait former un virus qui provoque une infection si le patient et les cellules de sauvetage, de réplication et d'empaquetage sont également exposés à l'AAV2 de type sauvage. Cependant, le sauvetage, la réplication et l'empaquetage cesseraient, car les virus helper tels que les rhinovirus, les adénovirus ou l'herpès sont éliminés par le système immunitaire du patient. Ce scénario improbable a été étudié. Dans la culture cellulaire, le génome de rAAV peut être sauvé et répliqué par surinfection par wtAAV et un virus helper. Cependant, les expériences de sauvetage in vivo n'ont montré ni sauvetage, ni réplication (Favre et al., 2001), à l'exception d'un cas où de très fortes doses de wtAAV et d'adénovirus ont été administrées dans un cadre particulier (Afione et al., 1996). Par conséquent, l'interaction de l'AAV9 avec d'autres virus permettant de provoquer une infection semble être un risque minime pour AVXS-101.

4.3 Information concernant l'effet escompté de l'exposition à AVXS-101

Chez les personnes traitées : AVXS-101 devrait cibler les neurones moteurs dans le SNC et les tissus systémiques clés. Après traitement, le vecteur devrait persister pendant des mois ou des années, principalement sous la forme de structures épisomiques stables dans les cellules actives pour la transcription

La présence du gène hSMN sous le contrôle transcriptionnel de l'hybride de l'activateur du cytomégalovirus (CMV)/du promoteur de l'actine bêta du poulet (CBA) devrait entraîner l'expression d'un hSMN fonctionnel. Des taux accrus de protéine SMN fonctionnelle dans les cellules cibles devraient interrompre ou inverser la mort cellulaire des neurones moteurs et la dénervation du muscle squelettique.

La protéine SMN humaine n'est pas connue pour avoir des effets toxiques.

Sur la base des données de l'étude de phase I AVXS-101-CL-101 actuellement disponibles au 7 août 2017, AVXS-101 semble être sûr et bien toléré lorsqu'il est administré à des nourrissons atteints d'AMR, et les premières données sont encourageantes car elles montrent une efficacité cliniquement significative vis-à-vis de cette maladie neurodégénérative dévastatrice. L'administration d'AVXS-101 dans l'étude AVXS-101-CL-101 a eu un impact positif significatif sur la fonction motrice et constitue une avancée majeure en termes de motricité.

En raison du nombre limité de patients traités avec AVXS-101 à ce jour, les risques potentiels associés à AVXS-101 ne sont pas entièrement connus à l'heure actuelle. Les patients pourraient développer une réponse immunitaire au vecteur viral de l'AAV9, qui pourrait interférer avec ou empêcher l'utilisation future d'interventions de transfert de gènes à l'aide de ce vecteur. Des valeurs de tests hépatiques élevées ont été observées dans l'étude AVXS-101-CL-101 en cours, qui reflètent probablement une réponse immunitaire des lymphocytes T au vecteur de l'AAV9. Aucune des anomalies des enzymes hépatiques observées dans l'étude n'ont été accompagnées de séquelles cliniques, et toutes ont été résolues à la suite d'un traitement par prednisolone. Bien qu'aucun autre EI lié au traitement n'ait été signalé à ce jour, d'autres risques potentiels liés au traitement qui sont actuellement inconnus peuvent exister, étant donné l'expérience clinique limitée à ce jour. La poursuite de l'étude permettra une meilleure caractérisation du profil bénéfique/risque.

Chez les personnes non ciblées : Bien que les infections chez l'humain soient courantes, l'AAV n'est pas connu comme étant un virus pathogène chez l'être humain et n'a jamais été impliqué comme agent étiologique d'une maladie quelconque. Pratiquement aucune réponse immunitaire naturelle humaine n'est observée dans l'infection par l'AAV et au niveau adaptatif, il s'agit principalement d'une réponse humorale. La présence d'anticorps préexistants chez les patients due à des infections antérieures est à l'origine de la réponse humorale observée à l'égard de l'AAV. Les réponses à médiation cellulaire aux vecteurs de l'AAV ont été documentées, mais cette réponse peut être dépendante de la voie d'administration. Malgré l'absence de preuves de pathogénicité, des corrélations ont été établies entre :

- (i) la présence de séquences d'ADN du virus AAV dans le tissu testiculaire et les échantillons de sperme anormaux,
- (ii) la survenue d'une infection par AAV dans le matériel embryonnaire ainsi que dans l'épithélium cervical.

Il est difficile d'établir une association claire à partir de ces études, étant donné que des preuves concomitantes d'infection par le papillomavirus humain existent chez la plupart des patients, et que l'ADN de l'AAV peut être détecté dans des échantillons cervicaux chez la majorité des femmes, mais dépend beaucoup des différences de recueil d'échantillons entre les études. Le risque de mutagenèse insertionnelle causée par l'intégration non spécifique au site du génome de l'AAV dans le génome de la cellule hôte de cellules infectées constitue un autre risque théorique d'infection par l'AAV. Les données précliniques indiquent que, dans la plupart des cas, l'ADN provenant de vecteurs de l'AAV recombinants persiste principalement sous forme d'éléments extrachromosomiques (épisomes) plutôt que par l'intégration dans le génome des cellules hôtes.

Il existe des rapports contradictoires selon lesquels l'intégration du génome de l'AAV2 de type sauvage est associée à l'induction du carcinome hépatocellulaire chez un petit sous-ensemble de patients. Cependant, plusieurs études fournissent des preuves permettant de contredire ces affirmations :

- (i) l'AAV2 a infecté environ 90 % de la population humaine,
- (ii) il a été montré que l'AAV2 possède une action anticancéreuse,
- (iii) des preuves épidémiologiques montrent que l'infection par l'AAV2 joue un rôle protecteur contre le carcinome cervical,
- (iv) les sérotypes de l'AAV, y compris l'AAV2 et l'AAV9 recombinants, ont été ou sont actuellement utilisés dans le cadre de 162 études cliniques à ce jour, dans lesquelles aucun type de cancer n'a été observé ou signalé.

Il est possible que le vecteur de l'AAV9 contenant le gène *SMN* interagisse avec d'autres virus avec lesquels les patients entrent en contact, tels que rhinovirus, adénovirus ou herpès. Dans ce cas, le vecteur de l'AAV9 pourrait former un virus qui provoque une infection si le patient et les cellules de sauvetage, de réplication et d'emballage sont également exposés à l'AAV2 de type sauvage. Cependant, le sauvetage, la réplication et l'emballage cesseraient, car les virus helper tels que les rhinovirus, les adénovirus ou l'herpès sont éliminés par le système immunitaire du patient. Ce scénario improbable a été étudié. Dans la culture cellulaire, le génome de rAAV peut être sauvé et répliqué par surinfection par wtAAV et un virus helper. Cependant, les expériences de sauvetage in vivo n'ont montré ni sauvetage, ni réplication, à l'exception d'un cas où de très fortes doses de wtAAV et d'adénovirus ont été administrées dans un cadre particulier.

Par conséquent, l'interaction de l'AAV9 avec d'autres virus permettant de provoquer une infection semble être un risque minime pour AVXS-101.

Comme l'AAV de type sauvage, AVXS-101 n'est pas connu pour être pathogène chez l'être humain. AVXS-101 est un produit biologique recombinant destiné à la thérapie de remplacement génique chez les nourrissons. Il est composé d'une capsid du virus adéno-associé recombinant de sérotype 9 (AAV9) auto-complémentaire, non-répliquant et non-intégrant contenant l'ADNc du gène SMN humain sous le contrôle de l'hybride de l'activateur du cytomégalo virus (CMV)/du promoteur de l'actine bêta du poulet (CBA) ainsi que deux répétitions terminales inversées (ITR) d'ADN de l'AAV de sérotype 2 (AAV2). L'ITR de l'AAV gauche a été modifiée pour favoriser le recuit intramoléculaire du transgène, formant ainsi un transgène à double brin prêt pour la transcription. L'ensemble de l'ADN de l'AAV9 de type sauvage a été retiré et remplacé par les gènes décrits ci-dessus (les deux ITR sont issus de l'AAV2).

AVXS-101 ne contient aucun des gènes viraux nécessaires à la réplication, le rendant ainsi incapable de se répliquer, même en présence d'un virus helper. Dans la seule situation hypothétique où une cellule serait co-infectée par AVXS-101, l'AAV de type sauvage et le virus helper, la réplication d'AVXS-101 (disséminé) pourrait survenir. Par conséquent, la pathogénicité d'AVXS-101 devrait être encore moins importante que celle de ses virus parents AAV2 ou AAV9, qui sont déjà considérés comme non pathogènes.

Comme le produit AVXS-101 utilise un AAV9 dont l'ensemble de l'ADN de type sauvage est éliminé des capsides, à l'exception des répétitions terminales inversées, le risque potentiel d'incorporation d'AVXS-101 dans l'ADN chromosomique du patient devrait être considérablement réduit. Les études précliniques étayaient davantage le risque extrêmement faible d'incorporation potentielle dans l'ADN chromosomique de l'hôte, car à ce jour, elles n'ont pas montré de développement de cancer chez les animaux traités, y compris les souris et les primates non humains exposés à AVXS-101.

Les effets d'une exposition involontaire des êtres humains à AVXS-101 sont les mêmes que ceux d'une exposition volontaire des sujets (patients) : effets liés à l'expression de la protéine SMN, induction de réponses immunitaires anti-AAV9 et conséquences potentielles d'une mutagenèse insertionnelle et d'une transmission verticale. La probabilité que ces effets surviennent et/ou provoquent des effets nocifs est négligeable, car l'exposition involontaire des êtres humains à AVXS-101 (infectieux) ne peut être qu'inférieure de plusieurs ordres de grandeur à l'exposition des patients, en raison de l'incapacité d'AVXS-101 à se répliquer et à la quantité et la durée limitées (le cas échéant) d'AVXS-101 infectieux excrété par les patients.

Un nombre limité de personnes devrait être en contact avec AVXS-101. Le personnel médical autorisé à manipuler le ME sera formé en conséquence. La famille et les soignants auront pour consigne d'utiliser des gants de protection en cas de contact direct avec les liquides et/ou déchets organiques du patient, et d'avoir une bonne hygiène des mains pendant au moins quatre semaines après la thérapie de remplacement génique. De plus, il est interdit aux patients de faire des dons de sang pendant deux ans à compter de la perfusion du vecteur.

5 Information concernant le risque potentiel d'AVXS-101 pour l'environnement

5.1 Information concernant l'excrétion d'AVXS-101

Les données expérimentales précédentes évaluant l'excrétion des vecteurs viraux de l'AAV recombinants chez l'animal (rongeur et primate non humain) recevant des injections systémiques (IV) de vecteur rAAV à titre élevé n'ont démontré qu'une excrétion transitoire et réduite de rAAV dans les liquides corporels, notamment urine, sperme, sang et selles (Tenenbaum et al. 2003; Reuter et al. 2012).

En outre, dans le cadre d'un essai clinique antérieur et toujours en cours concernant AVXS-101 (AVXS-101-CL-101), le promoteur a recueilli des échantillons de salive, d'urine et de selles chaque semaine jusqu'au jour 30 puis chaque mois jusqu'au mois 18 après le transfert génique pendant l'étude clinique AVXS-101-CL-101 chez cinq patients pour une analyse de l'excrétion virale. Cette analyse détecte le nombre de copies du génome du vecteur à l'aide de la méthode ddPCR (Digital Droplet PCR) hautement sensible dans les échantillons biologiques disponibles. L'ADN d'AVXS-101 est détectable dans les échantillons excrétés dès le jour 1 après l'injection. Les cinq patients analysés ont reçu une dose de 2×10^{14} vg/kg. Les concentrations de génome du vecteur excrétées dans la salive et l'urine étaient inférieures aux limites de quantification par ddPCR dans ces échantillons dans les jours suivant l'administration de la dose. Bien qu'elles soient initialement concentrées dans les selles, les quantités de vecteur excrétées diminuent de manière logarithmique. Des taux de 10,0 à 100,0 % de la concentration administrée sont détectables jusqu'à 14 jours après la dose dans les selles. Ces concentrations diminuent d'environ 4 logs sur les 30 jours suivant l'administration de la dose, et tous les patients présentaient des taux d'ADN d'AVXS-101 inférieurs aux limites de quantification dans les selles 60 jours après la dose. Des taux correspondant à 0,1–0,01 % de la dose initiale du patient sont décelés dans l'urine et la salive 1 jour après l'administration, après quoi les taux d'AVXS-101 excrétés dans ces échantillons biologiques sont inférieurs à la limite de quantification du test. Prises ensemble, ces données démontrent une baisse rapide des quantités de vecteur excrétées à un niveau nettement inférieur aux concentrations administrées chez les patients traités par AVXS 101.

Ce phénomène est conforme aux autres études évaluant la bio-distribution et l'excrétion du vecteur viral de l'AAV chez des primates non humains et chez des patients humains recrutés dans des essais cliniques utilisant des vecteurs rAAV (Manno et al. 2006; Favre et al. 2001; Salmon et al. 2014) au cours desquelles les taux de vecteur excrété présents dans les liquides organiques ont baissé rapidement jusqu'à atteindre des taux indétectables dans les jours ou semaines suivant l'administration.

Étant donné que le vecteur rAAV9 utilisé dans cette étude est entièrement non-répliquant et n'est pas un agent pathogène connu d'une espèce végétale ou animale, et le virus de type sauvage étant naturellement présent dans l'environnement, le risque environnemental lié à l'exposition à des matériaux potentiellement contaminés est considéré comme minime. L'excrétion du vecteur d'AVXS-101 est observée dans les matières fécales des patients traités sur la base des données obtenues auprès des participants à l'étude AVXS-101-CL-101, ainsi que dans les études précliniques et dans le cadre d'observations effectuées lors d'autres essais cliniques sur rAAV, correspondant à une baisse rapide jusqu'à des taux pouvant être pratiquement considérés comme non infectieux, en particulier vu la forte multiplicité d'infection (MOI) nécessaire pour obtenir une transduction productive. Avant tout, le vecteur AVXS-101 recombinant est fortement atténué

et incapable de générer une infection productive, même en présence de virus helper sauvages dans l'environnement.

5.2 Information concernant la propagation potentielle d'AVXS-101

Il existe trois scénarios potentiels de propagation d'AVXS-101 des patients dans l'environnement : via une blessure par aiguille pendant l'administration du ME, via le sang à la suite d'une blessure par aiguille ou via une excrétion directement par le patient.

Les voies de propagation du virus du patient dans l'environnement sont les liquides organiques tels que l'urine, les selles, le sang et la salive. Étant donné le faible nombre de patients devant être exposés dans la mesure où l'AMR est une maladie rare, et le niveau d'expertise et de formation du personnel médical autorisé à manipuler le ME et à obtenir des échantillons des patients, il est très improbable que l'OGM se propage du patient dans l'environnement car les niveaux d'OGM dans le sang des patients traités sont pratiquement indétectables et la voie d'administration comporte un risque d'excrétion négligeable des patients. Le risque d'infectiosité est faible car AVXS-101 est un virus adéno-associé recombinant non-répliquant. Étant donné que le vecteur rAAV2/9 utilisé dans cette étude est entièrement non-répliquant et n'est pas un pathogène connu d'une espèce végétale ou animale, et étant donné que le virus de type sauvage est naturellement présent dans l'environnement, le risque environnemental lié à l'exposition à des matériaux potentiellement contaminés est considéré comme minime. L'excrétion du vecteur d'AVXS-101 est observée dans les matières fécales des patients traités sur la base des données obtenues auprès des participants à l'étude AVXS-101-CL-101, ainsi que dans les études précliniques et dans le cadre d'observations effectuées lors d'autres essais cliniques sur rAAV, correspondant à une baisse rapide jusqu'à des taux pouvant être pratiquement considérés comme non infectieux, en particulier vu la forte multiplicité d'infection (MOI) nécessaire pour obtenir une transduction productive. Avant tout, le vecteur AVXS-101 recombinant est fortement atténué et incapable de générer une infection productive, même en présence de virus helper sauvages dans l'environnement.

L'AMR est une maladie rare et le nombre de sujets de test dans cette étude initiale est donc faible en Belgique [jusqu'à 5 patients] et le nombre de patients susceptibles de recevoir le traitement si les résultats du test sont positifs devrait être de 100 patients par an. Les effets indésirables d'une infection par l'AAV9 ne sont généralement pas cliniquement significatifs. Le risque serait légèrement plus élevé si deux membres d'une même fratrie étaient candidats au traitement et le recevaient à des moments différents. L'un des frères et sœurs pourrait potentiellement être exposé à l'AAV9 et développer des anticorps neutralisants contre le traitement avant même de le recevoir.

Il est possible que des êtres humains soient infectés par scAAV9 s'ils entrent en contact avec les selles, l'urine, le sang ou la salive du patient. Pour réduire ce risque, les patients sont hospitalisés pendant 48 heures maximum après l'administration de la thérapie de remplacement génique. Pendant l'hospitalisation, le personnel doit respecter les précautions de sécurité appropriées suivantes, conformément au protocole de prévention des infections de l'établissement ; le protocole standard exige de porter un équipement de protection personnelle (EPP) tel que blouse, gants, masque, lunettes et chaussures fermées. Les instructions approuvées par le comité de protection des personnes (CPP)/comité d'éthique indépendant (CEI) sont transmises à la famille du patient et aux soignants concernant l'utilisation de gants de protection en cas de contact direct avec les liquides et/ou déchets organiques du patient, ainsi que la bonne hygiène des mains pendant au moins quatre semaines après la thérapie de remplacement génique.

Seuls les patients présentant un diagnostic confirmé d'AMR tel que déterminé lors de l'analyse des mutations génétiques par la présence de mutations bi-alléliques du gène *SMN1* (délétion ou mutations ponctuelles) peuvent participer à l'étude et recevoir un traitement par AVXS-101 à l'aide d'une perfusion IV unique. Ces critères d'inclusion limitent le risque pour l'environnement car seuls les patients atteints de la maladie concernée seront exposés à l'OGM.

6 Information concernant la décontamination de l'équipement en contact avec AVXS-101

Après l'administration d'AVXS-101 au patient, la salle d'intervention sera nettoyée selon les procédures standard de l'établissement. Dans la mesure où le fabricant fournira AVXS-101 à la pharmacie de l'hôpital pour un seul patient à la fois, aucun produit inutilisé ne devrait rester au centre hospitalier après l'administration aux patients. Tout flacon ouvert ou matériel non utilisé doit être emballé dans des récipients étanches et retourné à AveXis/au dépôt désigné. En cas de déversement accidentel d'AVXS-101 (p. ex. sur la paillasse ou le sol), les procédures locales seront respectées pour contenir et désinfecter immédiatement la substance déversée afin d'éviter sa propagation. Pour décontaminer les zones affectées (p. ex. éradication des OGM), les déversements dans la salle d'opération seront nettoyés à l'aide d'une solution d'eau de Javel, conformément aux recommandations de la European Association of Hospital Pharmacists concernant la manipulation des médicaments de thérapie génique et au Manuel de pharmacie. Tous les matériaux contaminés seront mis au rebut localement par incinération ou autoclavage. Tous les autres lieux seront nettoyés conformément aux procédures de décontamination normales (ajouter référence aux procédures de décontamination sur site).

7 Information concernant le plan de secours en cas de déversement accidentel d'AVXS-101

En cas de déversement accidentel d'AVXS-101 (p. ex. sur la paillasse ou le sol), les procédures locales seront respectées pour contenir et désinfecter immédiatement la substance déversée afin d'éviter sa propagation. Pour décontaminer les zones affectées (p. ex. éradication des OGM), les déversements dans la salle d'opération seront nettoyés comme indiqué ci-dessous :

1. Évacuer la zone, retirer les EPP contaminés et laisser les agents reposer pendant au moins 30 minutes. Lancer la procédure de traitement des déversements.
2. Recouvrir les substances déversées à l'aide de matériaux absorbants. Commencer par les bords et progresser jusqu'au centre.
3. Verser délicatement du désinfectant (solution d'eau de Javel suivie de lingettes imprégnées d'alcool) sur les substances absorbées, en commençant également par les bords. Saturer la zone de désinfectant.
4. Laisser une période de contact suffisante pour inactiver les substances déversées. Les substances non visqueuses nécessitent 15 à 20 minutes : les substances visqueuses nécessitent 30 minutes.

5. Utiliser des serviettes en papier pour essuyer les substances déversées, en allant du bord vers le centre. Utiliser des pinces ou des brucelles pour ramasser les morceaux de plastique ou de verre ou les autres objets coupants susceptibles de perforer les gants.
6. Jeter les matériaux absorbants avec les déchets chimiques.
7. Nettoyer la zone contaminée à l'aide de serviettes en papier propres imbibées de désinfectant. Bien humidifier la zone, la laisser désinfecter pendant 15 à 20 minutes supplémentaires, et essuyer à l'aide de serviettes.
8. Jeter tous les matériaux utilisés pour le nettoyage (imbibés de désinfectant) dans le sac/conteneur pour déchets chimiques, et tout EPP contaminé dans un sac pour déchets biologiques dangereux. Bien fermer et sécuriser les sacs.
9. Placer le sac dans un deuxième sac pour déchets biologiques dangereux, le sécuriser et le mettre au rebut conformément au protocole de l'établissement concernant ce type de déchets.

8 Information concernant des mesures de précaution supplémentaires

Les mesures de sécurité relatives aux agents de biosécurité de niveau 1 seront d'application. La préparation d'AVXS-101 doit respecter les techniques d'asepsie locales/nationales. Le pharmacien du centre d'étude préparera le produit du vecteur AVXS-101 dans des conditions stériles. Le port de blouses de laboratoire ou d'uniformes de protection est recommandé pour éviter la contamination des vêtements personnels. Porter des lunettes de protection lors de la réalisation de procédures susceptibles d'entraîner la projection de micro-organismes ou d'autres substances dangereuses. Les personnes qui portent des lentilles de contact en laboratoire doivent également se munir de protections oculaires. Il est indispensable de porter des gants afin de protéger les mains contre une exposition à toute substance dangereuse. Le choix des gants doit reposer sur une évaluation appropriée des risques. Des gants sans latex doivent être mis à disposition. Se laver les mains avant de sortir du laboratoire.

Les employés BSL-1 doivent : Changer de gants lorsqu'ils sont contaminés, endommagés ou dans tous les cas où cela est nécessaire. Retirer leurs gants et se laver les mains après avoir travaillé avec des substances dangereuses et avant de sortir du laboratoire. Ne pas laver ni réutiliser les gants jetables. Jeter les gants usagés avec les autres déchets de laboratoire contaminés. Les protocoles en matière de lavage des mains doivent être scrupuleusement respectés.

9 Date de début et de fin des études cliniques

Étude clinique AVXS-101-CL-302

Date de début : 1er semestre 2018

Date de fin : 1er trimestre 2021

Étude clinique AVXS-101-CL-304

Date de début : 1er semestre 2018

Date de fin : 4e trimestre 2024