

## **Formulário de pedido comum para medicamento experimental para uso humano que contém ou é composto por vetores AAV<sup>1</sup>**

**Nota 1:** Este formulário de candidatura pode ser utilizado para submissões nas seguintes jurisdições: Áustria, Bélgica, Croácia, República Checa, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Hungria, Irlanda, Itália, Letónia, Lituânia, Luxemburgo, Países Baixos, Portugal, Roménia, Eslovénia e Espanha.

**Nota 2:** O formulário de pedido deve ser acompanhado da SNIF (modelo de resumo das notificações relativas à libertação deliberada no ambiente de organismos geneticamente modificados para outros fins que não a colocação no mercado)<sup>2</sup> no caso de pedidos apresentados ao abrigo da Diretiva 2001/18/CE.

<b>Histórico do documento</b>	<b>Data de publicação</b>	<b>Descrição das principais alterações</b>
Versão 1	Outubro de 2019	
Versão 2	Dezembro de 2020	Aprovação por outros Estados-Membros (LT, SI)

<sup>1</sup> Este documento não foi adotado pela Comissão Europeia e, por conseguinte, não contém a posição oficial da Comissão Europeia.

<sup>2</sup> Decisão 2002/813/CE do Conselho que estabelece, em conformidade com a Diretiva 2001/18/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, o modelo de resumo das notificações relativas à libertação deliberada no ambiente de organismos geneticamente modificados para outros fins que não a colocação no mercado (JO L 280, 18.10.2002, p.62).

## 1. Introdução

Os ensaios clínicos realizados na UE com medicamentos experimentais que contenham ou sejam compostos por organismos geneticamente modificados (“OGM”<sup>3</sup>) devem cumprir a legislação que regula a autorização de ensaios clínicos.<sup>4</sup>

Os ensaios clínicos com medicamentos que contenham ou sejam compostos por OGM têm também de cumprir os requisitos aplicáveis da Diretiva 2001/18/CE relativa à libertação deliberada no ambiente de organismos geneticamente modificados<sup>5</sup> (“quadro de libertação deliberada”) e/ou da Diretiva 2009/41/CE relativa à utilização confinada de microrganismos geneticamente modificados (“quadro de utilização confinada”).<sup>6</sup>

Este formulário de pedido implementa os requisitos da Diretiva 2009/41/CE e da Diretiva 2001/18/CE, conforme adaptados às características específicas dos vetores virais adeno-associados (“AAV”, do inglês adeno-associated viral vector) contidos nos medicamentos experimentais para uso humano.

Este é um formulário de pedido para medicamentos experimentais para uso humano que contêm ou são compostos por AAV (doravante designados como “vetores clínicos”). Contudo, se o pedido disser respeito a um medicamento experimental que contenha ou seja composto por AAV que já tenha obtido uma autorização de introdução no mercado, deve ser utilizado o *formulário de apresentação para utilização em caso de ensaios clínicos com medicamentos autorizados* (desde que o formulário de apresentação tenha sido aprovado pelas autoridades competentes na jurisdição pertinente).

O formulário de pedido foi aprovado pela Áustria, Bélgica, Croácia, República Checa, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Hungria, Irlanda, Itália, Letónia, Lituânia, Luxemburgo, Países Baixos, Portugal, Roménia, Eslovénia e Espanha.

## 2. Notas explicativas

O formulário de pedido comum não prejudica os requisitos de consulta existentes ao abrigo da Diretiva 2001/18/CE.

Além disso, certos requisitos nacionais podem ter de ser considerados pelos autores de medicamentos antes de enviarem o formulário de pedido às autoridades competentes:

---

<sup>3</sup> Ao longo deste documento, o termo “GMsmiO” deve ser entendido como abrangendo ambos os organismos geneticamente modificados, conforme definido no Artigo 2.º(2) da Diretiva 2001/18/CE, e os microrganismos geneticamente modificados, na aceção do Artigo 2.º, alínea b), da Diretiva 2009/41/CE.

<sup>4</sup> Regulamento (UE) N.º 536/2014 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de abril de 2014, relativo a ensaios clínicos de medicamentos para uso humano e que revoga a Diretiva 2001/20/CE, (JO L158 de 27.5.2014, p.1). Até à aplicação do regulamento, é aplicável a Diretiva 2001/20/CE (Diretiva 2001/20/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 4 de abril de 2001, relativa à aproximação das disposições legislativas, regulamentares e administrativas dos Estados-Membros respeitantes à aplicação de boas práticas clínicas na condução dos ensaios clínicos de medicamentos para uso humano, JO L121,1.5.2001, p.34).

<sup>5</sup> Diretiva 2001/18/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 12 de março de 2001, relativa à libertação deliberada no ambiente de organismos geneticamente modificados e que revoga a Diretiva 90/220/CEE do Conselho (JO L 106 de 17.4.2001, p. 1).

<sup>6</sup> Diretiva 2009/41/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 6 de Maio de 2009, relativa à utilização confinada de microrganismos geneticamente modificados (JO L 125, 21.5.2009, p. 75).

**Áustria:**

Os requerentes devem enviar pedidos separados no caso de existirem vários centros em causa na Áustria (incluindo instalações clínicas, laboratórios nos quais as atividades com OGM são realizadas, locais de armazenamento do medicamento experimental e local de armazenamento de amostras de participantes em ensaios clínicos que contenham OGM).

Estão disponíveis mais informações em:

[https://www.sozialministerium.at/site/Gesundheit/Gentechnik/Rechtsvorschriften\\_in\\_Oesterreich/](https://www.sozialministerium.at/site/Gesundheit/Gentechnik/Rechtsvorschriften_in_Oesterreich/)

**República Checa:**

Cada centro clínico, bem como outras instituições onde terão lugar as atividades com OGM (*por exemplo*, laboratórios que não sejam instalações de um dos centros clínicos) devem enviar uma notificação separada para libertação deliberada ou utilização confinada, conforme apropriado. No entanto, uma pessoa (*por exemplo*, o promotor) pode ser capacitada pelos centros/instituições em questão para enviar todas as notificações necessárias.

**França:**

Para medicamentos experimentais que são avaliados ao abrigo da estrutura de utilização confinada, os candidatos devem enviar submissões separadas caso existam vários centros em França.

**Itália:**

Para medicamentos experimentais que são avaliados de acordo com o quadro de utilização confinada, cada centro clínico (incluindo instalações clínicas, laboratórios nos quais as atividades com OGM são realizadas, locais de armazenamento do medicamento experimental e local de armazenamento de amostras de participantes em ensaios clínicos que contenham OGM) deve enviar uma notificação separada. No entanto, uma pessoa (*por exemplo*, o promotor) pode ser capacitada pelos centros/instituições em questão para enviar todas as notificações necessárias.

É de salientar que, caso o pedido seja feito por um terceiro em nome do centro, as responsabilidades dos proprietários do centro e utilizadores em causa (conforme estabelecido no Decreto Legislativo n.º 206/2001) permanecem inalteradas.

**Países Baixos:**

Estão disponíveis mais informações sobre os requisitos e formulários processuais nacionais em:

<https://www.loketgentherapie.nl/en/aav>

**FORMULÁRIO DE PEDIDO COMUM PARA MEDICAMENTO EXPERIMENTAL PARA USO HUMANO QUE CONTÉM OU É COMPOSTO POR VETORES AAV**

**SECÇÃO 1 - INFORMAÇÕES ADMINISTRATIVAS**

**1.1. Identificação do candidato.**

<b>Organização Nome:</b>	PPD GLOBAL LTD - SUCURSAL EM PORTUGAL Em nome da Ultragenyx Pharmaceutical Inc
<b>Morada Dados:</b>	Avenida da Liberdade, 180 A - 4º Dt.º 1250-146 Lisboa, Portugal
<b>Pessoa de contacto:</b>	Maria Monteiro
<b>N.º de telefone:</b>	+351308806197
<b>Endereço de E-mail:</b>	maria.monteiro@ppd.com

**1.2. Identificação do promotor (na medida em que seja diferente do requerente).**

<b>Organização Nome:</b>	Ultragenyx Pharmaceutical, Inc.
<b>Morada Dados:</b>	840 Memorial Drive Cambridge, MA 02139 EUA
<b>Pessoa de contacto:</b>	Matthew Gollwitzer
<b>N.º de telefone:</b>	+1-617-714-0696
<b>Endereço de E-mail:</b>	mgollwitzer@ultragenyx.com

**1.3 Identificação do fabricante do vetor clínico.**

<b>Organização Nome:</b>	Lonza Houston, Inc.
<b>Local de fabrico:</b>	14905 Kirby Drive Houston, TX 77047 EUA

## SECÇÃO 2 –INFORMAÇÕES RELATIVAS AO MEDICAMENTO EXPERIMENTAL

### 2.1. Descrição do sistema de produção.

*Devem ser fornecidos mapas claros dos vetores utilizados para produção de recAAV (por exemplo, plasmídeos, baculovírus) mostrando todas as partes constituintes do vetor clínico de AAV (ou seja, além do “vetor transgênico”, devem ser descritos todos os outros vetores como vetores auxiliares, de empacotamento e pseudotipagem).*

*As características de todas as linhas celulares utilizadas e eventuais modificações do genoma celular devem ser explicadas. Descrever os tipos de células em causa, bem como a sua origem (por exemplo, rim humano, células epiteliais, células de insetos).*

*Deve ser discutida a possibilidade de o material genético nas células/linhas celulares causar uma determinada interação com o vetor clínico, como por complemento ou recombinação. Em particular, os testes aplicados para identificar possível contaminação da linha celular por vírus AAV de tipo selvagem e/ou qualquer vírus identificado como vírus auxiliar para o AAV devem ser explicados.*

---

#### **Natureza do produto:**

O produto do processo de fabrico é o UX701, uma partícula viral AAV9 recombinante, não replicante, que inclui uma cassette de expressão contendo a sequência de codificação ATP7B-MBD456 humana sob o controlo de um promotor específico do fígado. Dado o grande tamanho da sequência de codificação do ADN de ATP7B do tipo selvagem, o tamanho do transgene foi reduzido para facilitar o empacotamento eficiente do genoma de comprimento total. O transgene no UX701 é composto pela versão de codão de ADN nativo de ATP7B, para conter apenas os últimos 3 dos 6 domínios de ligação a metais (ATP-MDB456).

#### **Informações sobre o processo de fabrico:**

O vetor de transferência genética UX701 é produzido usando um vírus auxiliar de adenovírus tipo 5 (Ad5) e uma plataforma de linha celular produtora (PCL) HeLa.

O substrato celular utilizado para o processo de fabrico do vetor UX701 é a linha celular produtora HeLa PCLC-0047. Esta linha celular produtora foi derivada de uma linha celular hospedeira HeLa S3, <informação confidencial>, que foi posteriormente adaptada para um meio sem soro. A linha celular produtora HeLa PCLC-0047 contém um plasmídeo integrado de forma estável (pDTX.hATP7B\_MBD-456.701), incluindo uma região do genoma do vetor, bem como os genes *rep* do serotipo 2 do AAV (AAV2) e *cap* do serotipo 9 do AAV (AAV9) necessários para a amplificação e empacotamento do ADN do vetor.

A produção de AAV a partir da linha celular produtora HeLa PCLC-0047 é iniciada após infeção com um vírus auxiliar de adenovírus tipo 5 (Ad5) do tipo selvagem durante o processo de fabrico do vetor UX701.

#### **Informações sobre a linha celular produtora:**

A linha celular produtora HeLa PCLC-0047 foi gerada pela transfeção plasmídica da linha celular hospedeira HeLa S3, <Informação confidencial>.

<Informação confidencial>

#### **Informações sobre o plasmídeo de expressão pDTX.hATP7B\_MBD-456.701**

O plasmídeo <informação confidencial> pDTX.hATP7B\_MBD-456.701 contém a região de codificação

beta do transportador de cobre adenosina trifosfatase humana (contendo apenas os últimos 3 dos 6 domínios de ligação a metais (ATP7B-MBD456)), os genes *rep* de AAV2 e os genes da cápside do AAV9. O plasmídeo foi introduzido nas células HeLa S3 para gerar a linha celular produtora PCLC-0047.

A cassette genética terapêutica ATP7B-MBD456 está sob o controlo do promotor de transtirretina humana específica dos hepatócitos (TTR) com uma única cópia do elemento estimulador de TTR murino (enTTR) e um sinal de poliadenilação derivado do SV40. A cassette de expressão ATP7B-MBD456 é ladeada por sequências de repetição terminal invertidas (ITR) de AAV2. <Informação confidencial> .Os genes *rep* do AAV2 e *cap* do AAV9 suportam a amplificação e o empacotamento do ácido desoxirribonucleico (ADN) do AAV. <Informação confidencial>. Apresenta-se na **Tabela 1** um resumo das características do plasmídeo e as referências do GenBank para estas sequências, e é apresentado na <Informação confidencial> um mapa detalhado da sequência pDTX.hATP7B\_MBD-456.701.

A sequência viral de AAV é replicada a partir da sequência de plasmídeos integrada como um genoma de ADN de cadeia simples com repetições terminais invertidas (ITR) derivadas de AAV2 a flanquear a cassette de expressão ATP7BMBD456. A região entre e incluindo as ITR (sequência do genoma viral de 4485 nucleótidos) será encapsidada nos viriões de AAV9.

<Informação confidencial>

**Tabela 1: Regiões funcionais do pDTX.hATP7B\_MBD-456.701**

<b>Característica</b>	<b>Região (posições dos nucleótidos)</b>	<b>Referência do Genbank</b>	<b>Função</b>
ITR 5' e 3'	1-145 (5') 4341-4485 (3')	NC001401	Repetições terminais invertidas (ITR) de vírus adeno-associados de AAV2. As duas ITR são necessárias para replicação do ADN de rAAV e empacotamento em viriões.
enTTR	146-245	AH001846.2	Potenciador da transtirretina murina (pré-albumina) (Costa et al. 1988)
Promotor de TTR	246-435	NG_009490.1	O promotor de transtirretina humana em combinação com o enTTR guia a expressão do gene ATP7B-MBD456.
Intrão T pequeno SV40	436-530	NC_001669.1	O intrão T pequeno SV40 é fornecido para auxiliar na expressão do gene ATP7B-MBD456.
Região de codificação nativa de ATP7B-MBD456	540-4142	NM_000053.4	A região de codificação beta do transportador de cobre adenosina trifosfatase humana contendo apenas os últimos 3 domínios de ligação a metais (ATP7B-MBD456).
Sinal poli(A) de SV40	4143-4340	NC_001669.1	A região de poliadenilação do SV40 proporciona terminação transcricional e poliadenilação eficiente do ARNm de ATP7B-MBD456.
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>
<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>	<Informação confidencial>

**Adenovírus tipo 5 do tipo selvagem:**

O MVB do vírus Ad5 usado no fabrico do UX701 foi isolado de um banco viral Ad5 do tipo selvagem que foi verificado em sequência para corresponder ao Ad5 do tipo selvagem comparativamente à sequência de referência (GenBank AY339865). <Informação confidencial>.

**Informações sobre potencial recombinação:**

A transferência não intencional de outras informações genéticas só poderá ocorrer na eventualidade de recombinação entre os plasmídeos cis e o vírus Ad5, resultando na formação de AAV competente para replicação (rcAAV). Para detetar isto, os lotes de princípio ativo serão analisados quanto à presença de vírus competente para replicação (rcAAV) que possa, potencialmente, surgir durante o processo de produção.

É considerada improvável a recombinação de fragmentos de ADN genómicos aleatórios das linhas celulares em vetores AAV inovadores. A substância do medicamento é analisada quanto a vários vestígios de ADN não-vetores após a libertação.

Consulte a **Tabela 2** para detalhes, incluindo critérios de aceitação.

**Tabela 2: Impurezas de rcAAV e no ADN: Especificações para a libertação de princípio ativo**

Atributo	Método analítico	Critério de aceitação
AAV competente para replicação (rcAAV)	qPCR	Nenhuma detetada em $1 \times 10^8$ CG
<Informação confidencial>	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC
<Informação confidencial>	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC
ADN AAV2 Rep residual	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC
ADN Clade F Cap residual	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC
ADN Alu HC- residual	qPCR	Resultados para comunicação: ng/ $1 \times 10^{12}$ GC
ADN E1a residual	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC
ADN HPV18 E6 residual	qPCR	Resultados para comunicação: cópias/ $1 \times 10^{12}$ GC

**Contaminação viral das linhas celulares:**

São utilizadas várias estratégias de controlo complementares para garantir que o princípio ativo do UX701 e o medicamento UX701 não contêm agentes adventícios. Estes controlos incluem:

- Teste da linha celular produtora HeLa e da linha celular hospedeira HeLa S3 do Master Cell Bank (MCB) para deteção de agentes adventícios
- Testes do Master Virus Bank e do Working Virus Bank (MVB e WVB) de adenovírus tipo 5 (Ad5) para deteção de agentes adventícios, incluindo avaliação de testes em culturas de controlo não infetadas
- Controlos de fornecimento e manuseamento de matérias-primas utilizadas no processo de fabrico do princípio ativo do UX701
- Teste de colheita clarificada, carga de membrana AEX, fluxo através de membrana AEX e produtos intermédios do processo de inativação pós-calor para Ad5 infeccioso residual
- Testes de culturas de controlo não infetadas para deteção de agentes adventícios
- Testes de libertação do princípio ativo do UX701 e do medicamento

Dois MCB são relevantes para o processo de fabrico do princípio ativo do UX701: a) MCB HeLa S3 naïve, utilizado para produzir o MVB Ad5; e b) a linha celular produtora derivada de S3 recombinante, PCLC-0047, utilizada para produzir o UX701. <Informação confidencial>

Ambos os MCB foram testados para agentes adventícios, incluindo agentes microbianos, fúngicos, micoplasmáticos e virais. O teste viral de ambos os MCB foi abrangente e incluiu testes específicos e não específicos do vírus, incluindo a deteção *in vivo* de vírus adventícios (ratinhos adultos, ratinhos



em fase de aleitação, porquinhos-da-índia e ovos de galinha embrionados); detecção *in vitro* de vírus adventícios (teste de 28 dias com hemadsorção/hemaglutinação em linhas celulares MRC-5, Vero e HeLa); transcriptase reversa por PCR, microscopia eletrônica de transmissão (TEM), vírus bovinos (9 CFR); vírus suínos (9 CFR) e teste de um painel de vírus específicos e mycobacterium tuberculosis através de qPCR.

Não foram detetados vírus adeno-associados, vírus do herpes humano, citomegalovírus humano ou adenovírus nas linhas celulares.

## **2.2. Demonstração da ausência de formação de vírus competente para replicação.**

*O risco de geração de um AAV competente para replicação através da recombinação das partes constituintes do sistema de vetor viral deve ser minimizado. Os métodos analíticos para detecção de vírus competente para replicação devem ser descritos, incluindo informações sobre a especificidade e sensibilidade dos mesmos. Devem ser fornecidos dados de testes de RCV em diferentes etapas de fabrico (por exemplo, banco de sementes de vírus, produto final). Devem ser especificados os critérios de libertação no que respeita à análise do RCV.*

---

### **AAV competente para replicação (rcAAV) por qPCR**

#### **Objetivo**

Os produtos AAV recombinantes (rAAV) podem ser contaminados com AAV competente para replicação (rcAAV) de tipo selvagem ou pseudotipo selvagem gerados através de eventos de recombinação. Embora o rcAAV exija um vírus auxiliar para se replicar e não se saiba estar associado a doença em humanos, a expressão de genes virais poderia causar respostas imunes indesejáveis que representam um risco de segurança. Por conseguinte, os produtos de rAAV são testados, para garantir a ausência de qualquer rcAAV contaminante.

#### **Princípio**

O princípio do método baseia-se num processo de duas etapas. A amplificação do AAV na presença de vírus auxiliares é realizada em células HeLa, que é seguida por PCR para detetar as sequências *rep* e *cap* do AAV. Não devem ser detetadas sequências *rep* e *cap* no produto rAAV.

#### **Procedimento**

A amostra de teste é utilizada para transduzir células HeLa na presença ou ausência de adenovírus do tipo selvagem. São realizados três ciclos sucessivos de amplificação viral e o ADN genómico total é extraído em cada etapa da amplificação. O rcAAV é detetado por PCR quantitativa em tempo real (qPCR). São amplificadas três sequências a partir do ADN isolado com qPCR: as primeiras 2 são específicas para AAV Rep2 e ADN Cap9, e a terceira é específica para um gene endógeno em células HeLa (albumina humana). O número de cópias de Rep2 e Cap9 numa amostra é calculado comparando os valores de Ct encontrados para a amostra de teste com os valores encontrados para a curva padrão do plasmídeo (de 100 a  $1 \times 10^8$  cópias). Os números relativos de cópias das sequências Rep2 e Cap9 por célula são determinados calculando a proporção entre os números de cópias das sequências Rep2 e Cap9 e o número de cópias da sequência de albumina humana e multiplicando-os por 2. Níveis aumentados do número de cópias de Rep2 e/ou Cap9 por célula nos 3 ciclos de amplificação consecutivos indicam a presença de AAV competente para replicação. O equipamento necessário para este procedimento inclui equipamento de cultura celular de rotina, instrumento de PCR em tempo real e o software associado.

O vírus AAV2/9 híbrido do tipo selvagem, com 10 partículas infecciosas e 100 partículas infecciosas (com adenovírus), serve como um controlo positivo.

As células HeLa (com ou sem adenovírus), células transduzidas com o controlo positivo do vírus AAV2/9 (sem adenovírus) e células transduzidas com a amostra de teste (sem adenovírus) servem como controlos negativos.

O vírus de controlo positivo é replicativo quando coinfetado com adenovírus do tipo selvagem. É testado isoladamente ou na presença da amostra de teste de rAAV, para demonstrar o limite de deteção (LOD) para o ensaio.

A amostra de teste de rAAV coinfetada com adenovírus e o vírus AAV2/9 híbrido do tipo selvagem tem de ser positiva para Rep2 e Cap9, mostrando que a amostra de teste não interfere com a deteção de AAV replicativo.

#### Análise de dados

O primeiro passo para a análise de dados é calcular o número relativo de cópias Rep2 e Cap9 por célula. Isto é determinado calculando a razão entre os números de cópias das sequências Rep2 e Cap9 e o número de cópias da sequência de albumina humana e multiplicando-os por 2. Se o número de cópias Rep2 e/ou Cap9 por célula for  $\geq 10$  em, pelo menos, um dos três ciclos de amplificação, a replicação é estabelecida e os dados são comunicados como “Detetado em  $1 \times 10^8$  GC”.

Se a amostra de teste for negativa para sequências Rep2 e Cap9, os dados são comunicados como “Nenhum detetado em  $1 \times 10^8$  GC”.

#### Resumo de validação do método

Na **Tabela 3** apresenta-se um resumo da abordagem da validação, critérios de aceitação e resultados da validação.

**Tabela 3: Resumo de resultados de validação para AAV competente para replicação**

Parâmetro de validação	Abordagem experimental e critérios de aceitação	Resultados de validação
Especificidade	O sinal positivo é obtido apenas se estiverem presentes adenovírus e AAV replicativo.	O sinal positivo foi obtido apenas na presença de adenovírus e AAV replicativo.
Limite de deteção	Resultado a comunicar	10 rcAAV em $1E+10$ cópias do genoma

Todos os critérios de validação foram cumpridos e os resultados demonstram que o método tem especificidade e sensibilidade aceitáveis, as características-chave para um teste de limite de impurezas, e é adequado para o seu objetivo pretendido na determinação de AAV competente para replicação no princípio ativo do UX701.

#### Resultados das análises

A **Tabela 4** contém informações dos resultados do teste rcAAV.

**Tabela 4: Resultados do teste de rcAAV para lotes do princípio ativo**

	Lote 20HT879001	Lote U701-250P-W19-10	Lote U701-250P-W19-11
AAV competente para replicação (rcAAV) por qPCR	Nenhum detetado em $1 \times 10^9$ CG	Nenhum detetado em $1 \times 10^9$ CG	Nenhum detetado em $1 \times 10^9$ CG

O ensaio rcAAV é realizado durante a libertação do princípio ativo (PA). Como as linhas celulares apenas são transduzidas de forma transitória para cada novo lote de medicamento, não terão lugar testes RCA em nenhum momento antes da libertação do PA. Além disso, não pode ocorrer geração de rcAAV entre a libertação do PA e a libertação do medicamento.

### **2.3. Fornecer um diagrama (“mapa”) do vetor clínico.**

A partícula viral UX701 encapsida o ADN viral recombinante, que inclui a cassette de expressão ATP7B-MBD456 flanqueada por sequências de repetição terminal invertida (ITR) do serotipo 2 do AAV (AAV2). Apresenta-se na **Figura 1** uma representação esquemática da cassette de expressão ATP7B-MBD456 e ITR de flanqueamento. O nucleótido de 4,5 kb do genoma de vetor AAV contém o ADN complementar (ADNc) do transgene ATP7B-MBD456, um promotor e potenciador de transtirretina (TTR) específica do fígado, um intrão do vírus símio 40 (SV40) e uma sequência de poliadenilação (poliA) do SV40. Toda a cassette de expressão é ladeada por sequências de repetição terminal invertidas (ITR) do serotipo 2 do AAV (AAV2).

**Figura 1: Representação esquemática da cassette de expressão ATP7B-MBD456 e ITR**

TTR enhancer		TTR promoter		SV40 intron	ATP7B-MBD456		pA
Start Position	End Position	Element Size (Nt)	Description	Genbank reference			
1	145	145	ITR from AAV2	gb NC001401			
146	245	100	enTTR	gb AH001846.2			
246	435	190	TTR promoter	gb NG_009490.1			
436	530	95	SV40 small T intron	gb NC_001669.1			
540	4142	3603	ATP7B-MBD456 native	gb NM_000053.4			
4143	4340	198	SV40 poly(A) signal	gb NC_001669.1			
4341	4485	145	ITR from AAV2	gb NC001401			

AAV2 = serotipo 2 do vírus adeno-associado; ATP7B-MBD456 = região de codificação beta do transportador de cobre ATPase modificada para conter apenas os últimos 3 dos 6 domínios de ligação a metais; enTTR = estimulador de transtirretina murina; gb = GenBank; ITR = repetição terminal invertida; Nt = nucleótido; pA = domínio de poliadenilação; poly(A) = poliadenilação; SV40 = vírus símio 40; TTR = transtirretina

## 2.4. Caracterização molecular do vetor clínico

*Fornecer a sequência anotada do genoma (ou seja, indicar a localização das sequências que codificam a(s) casete(s) de expressão do transgene e os seus elementos reguladores).*

*Descrever de que forma o vetor clínico se desvia do vírus parental ao nível da caracterização molecular.*

*Deverão ser fornecidos os dados disponíveis que apoiam a estabilidade genética do vetor clínico. Os desvios devem ser discutidos, em particular o significado biológico dos mesmos.*

---

O tamanho total do plasmídeo de ADN pDTX.hATP7B\_MBD-456.701 é de <Informação confidencial> e contém o genoma do vetor UX701, que tem 4485 nucleótidos de comprimento (incluindo ITR de flanqueamento) e, como parte do processo de replicação do AAV, é encapsidado em partículas virais do AAV preformadas. As ITR têm locais de resolução terminal (trs) que servem para resolver as cadeias complementares (+) e (-) do genoma dsDNA antes do empacotamento. As ITR contidas no plasmídeo de cadeia dupla, e embaladas na partícula viral, são sequências ITR do AAV2 do tipo selvagem de 145 pares de bases de comprimento total. A sequência de ADN anotada para a região entre as ITR derivadas do plasmídeo é apresentada na **Figura 2**. A sequência de codificação do ADN ATP7B-MBD456 e elementos reguladores (promotor, potenciador, intrão e sequência de poliadenilação) foram confirmados por sequenciação do ADN viral no princípio ativo.

**Figura 2: Sequência de ADN anotada da casete de expressão ATP7B-MBD456 e ITR derivadas do plasmídeo pDTX.hATP7B\_Del1-3.701**



TAGAAAGGAATCTGCAGAAAGAAGCTGGTGTCTCTCCGTGTTGGTGGCTTGATGGCAGGAAAGGCAGAGATCAAGTATGACCCAGAGGTCATCCAGCCCTCG  
 1365  
 ATCTTTCCITAGACGCTTTCTTCGACCAAGAGAGGCACAACCAACGGAACTACCGTCCCTTCCGCTCTAGTTCATACTGGGCTCCAGTAGGTCGGGGAGG  
 245 250 255 260 265 270 275  
 Leu Glu Arg Asn Leu Gln Lys Glu Ala Gly Val Leu Ser Val Leu Val Ala Leu Met Ala Gly Lys Ala Glu Ile Lys Tyr Asp Pro Glu Val Ile Gln Pro Leu  
 ATP7B MBO456 >

AGATAGCTCAGTTTCATCCAGGACCTGGGTTTTGAGGCAGCAGTCATGGAGACTACGCAGGCTCCGATGGCAACATTGAGCTGACAACTCACAGGGATGACCTGCG  
 1470  
 TCTATCGAGTCAAGTAGGTCCTGGACCCAAAACCTCCGTCAGTACCTCCGATGCGTCCGAGGCTACCGTTGTAACCTCGACTGTTAGTGTCCCTACTGGAGCC  
 280 285 290 295 300 305 310  
 Glu Ile Ala Gln Phe Ile Gln Asp Leu Gly Phe Glu Ala Ala Val Met Glu Asp Tyr Ala Gly Ser Asp Gly Asn Ile Glu Leu Thr Ile Thr Gly Met Thr Cys  
 ATP7B MBO456 >

CGTCCTGTGTCCACAACATAGAGTCCAAACTCACGAGGACAATGGCATCACITATGCCTCCGTTGCCCTTGCCACCAGCAAAGCCCTTGTAAAGTTTGACCCGG  
 1575  
 GCAGGACACAGGTGTTGTATCTCAGGTTTGAAGTCTCCTGTTTACCAGTGTAAATCAGGAGCAACGGGAACCGTGGTCTTTTCGGGAACAATTCAAACTGGGGC  
 315 320 325 330 335 340 345  
 Ala Ser Cys Val His Asn Ile Glu Ser Lys Leu Thr Arg Thr Asn Gly Ile Thr Tyr Ala Ser Val Ala Leu Ala Thr Ser Lys Ala Leu Val Lys Phe Asp Pro  
 ATP7B MBO456 >

AAATTATCGGTCCACGGGATATTATCAAATTTATTGAGGAAATTTGGCTTTCATGCTTCCCTGGCCAGAGAAACCCCAACGCTCATCACTTGGACCACAAGATGG  
 1680  
 TTTAATAGCCAGGTGCCCTATAATAGTTTTAATAACTCCTTTAACCAGAAAGTACGAAAGGACCCGGTCTCTTTGGGGTTCGAGTAGTGAACCTGGTGTCTTACC  
 350 355 360 365 370 375 380  
 Glu Ile Ile Gly Pro Arg Asp Ile Ile Lys Ile Ile Glu Glu Ile Gly Phe His Ala Ser Leu Ala Gln Arg Asn Pro Asn Ala His His Leu Asp His Lys Met  
 ATP7B MBO456 >

AAATAAGCAGTGGAAAGAAGTCTTTCCTGTGCAGCCTGGTGTGGCATCCCTGTCATGGCCTTAATGATCTATATGCTGATACCCAGCAACAGGCCACCAGT  
 1785  
 TTTATTTCCGACCTTCTTCAGAAAGGACACGTCGGACCAAAACCGTAGGGACAGTACCGGAATTAAGATATACGACTATGGGTCGTTGCTCGGGTGGTCA  
 385 390 395 400 405 410 415  
 Glu Ile Lys Gln Trp Lys Lys Ser Phe Leu Cys Ser Leu Val Phe Gly Ile Pro Val Met Ala Leu Met Ile Tyr Met Leu Ile Pro Ser Asn Glu Pro His Gln  
 ATP7B MBO456 >

CCATGGTCCGACCCACAACATCATTCCAGGACTGTCCATTCTAAATCTCATCTTCTTATCTTGTGTACCTTTGTCCAGCTCCTCGGGTGGGTACTTCTACG  
 1890  
 GGTACCAGGACCTGGTGTGTAGTAAAGTCTGCACAGTAAAGTATTAGAGTAGAAGAAATAGAACACATGGAAACAGGTCGAGGAGCCACCACCATGAAGATGC  
 420 425 430 435 440 445 450  
 Ser Met Val Leu Asp His Asn Ile Ile Pro Gly Leu Ser Ile Leu Asn Leu Ile Phe Phe Ile Leu Cys Thr Phe Val Gln Leu Leu Gly Gly Trp Tyr Phe Tyr  
 ATP7B MBO456 >

TTCAGGCTACAAATCTCTGAGACACAGGTCAGCCAACTGGACGTGCTCATCGTCCCTGGCCACAAGCATTGCTTATGTTTTTCTCTGGTCATCTCGTGGTGGT  
 1995  
 AAGTCCGGATGTTTAGAGACTCTGTGTCCAGTCCGGTTGTACCTGCACAGTAGCAGGACCCGGTGTTCGTAACGAATACAAATAAGAGACCAGTAGGACCACCAAC  
 455 460 465 470 475 480 485  
 Val Gln Ala Tyr Lys Ser Leu Arg His Arg Ser Ala Asn Met Asp Val Leu Ile Val Leu Ala Thr Ser Ile Ala Tyr Val Tyr Ser Leu Val Ile Leu Val Val  
 ATP7B MBO456 >

CTGTGGCTGAGAAAGCCGAGAGGAGCCCTGTGACATTCTTCGACACGCCCCCATGCTCTTGTGTTCATTGCCCTGGGCCGGTGGCTGGAAACACTTGGCAAGA  
 2100  
 GACACCGACTCTTCGGCCTCTCCTCGGGACACTGTAAAGACTGTGCGGGGGTACGAGAAACACAAGTAACGGGACCCGGCCACCGACCTTGTGAACCGTCTTCT  
 490 495 500 505 510 515 520  
 Ala Val Ala Glu Lys Ala Glu Arg Ser Pro Val Thr Phe Phe Asp Thr Pro Pro Met Leu Phe Val Phe Ile Ala Leu Gly Arg Trp Leu Glu His Leu Ala Lys  
 ATP7B MBO456 >

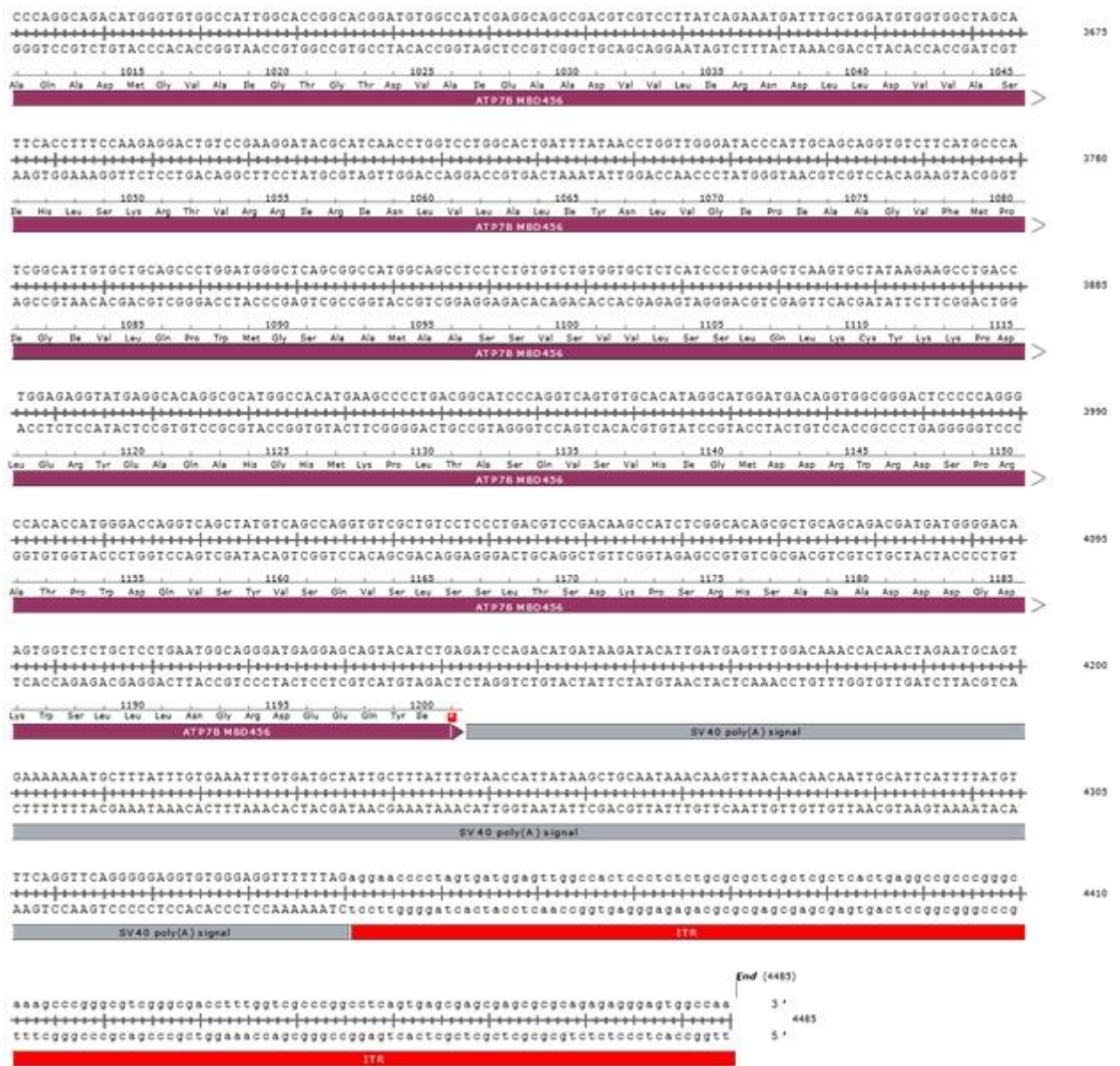
GCAAAACCTCAGAAAGCCCTGGCTAAACTCATGCTCTCCAAGCCACAGAAGCCACCGTGTGACCCCTTGGTGGGACAAITTAATCATCAGGGAGGAGCAAGTCC  
 2205  
 CGTTTTGGAGTCTTCGGGACCGATTGAGTACAGAGAGTTTCGGTGTCTTCGGTGGCAACACTGGGAACCACTCCTGTAAATTAGTAGTCCCTCCTCGTTCCAGG  
 525 530 535 540 545 550 555  
 Ser Lys Thr Ser Glu Ala Leu Ala Lys Leu Met Ser Leu Gln Ala Thr Glu Ala Thr Val Val Thr Leu Gly Glu Asp Asn Leu Ile Ile Arg Glu Glu Val  
 ATP7B MBO456 >

CCATGGAGCTGGTGCAGCGGGGCGATATCGTCAAAGTGGTCCCTGGGGGAAAGTTTTCCAGTGGATGGGAAAGTCCCTGGAAAGCAATACCATGGCTGATGATGCC  
 2310  
 GGTACCTCGACCAGTTCGCCCCGTATAGCAGTCCACCAAGGACCCCTTTCAAAGGTCACCTACCCCTTTCAGGACCTTCCGTTATGGTACCAGACTACTCAGGG  
 560 565 570 575 580 585 590  
 Pro Met Glu Leu Val Gln Arg Gly Asp Ile Val Lys Val Val Pro Gly Gly Lys Phe Pro Val Asp Gly Lys Val Leu Glu Gly Asn Thr Met Ala Asp Glu Ser  
 ATP7B MBO456 >

TCATCACAGGAGAAGCCATGCCAGTCACTAAGAAACCCGGAAGCACTGTAATTCGGGGTCTATAAATGCACATGGCTCTGTGCTCAITAAAGTACCCACGTTGG  
 2415  
 AGTAGTGTCTTTCGGTACGGTCACTGATTCTTTGGGCCITCGTGACATTAACGCCCCAGATATTTACGTTACCGAGACACAGATAAITTCGATGGGTGCACC  
 595 600 605 610 615 620 625  
 Leu Ile Thr Gly Glu Ala Met Pro Val Thr Lys Lys Pro Gly Ser Thr Val Ile Ala Glu Ser Ile Asn Ala His Gly Ser Val Leu Ile Lys Ala Thr His Val  
 ATP7B MBO456 >







### Desvios do OGM do vírus parental a nível molecular

O genoma viral do UX701 foi significativamente modificado comparativamente com o vírus parental, para o tornar incompetente para replicação. O vetor UX701 é derivado do AAV do tipo selvagem utilizando técnicas de ADN recombinantes e contém um genoma de ADN de cadeia simples de 4,5 kb nucleótidos. Todos os genes virais foram removidos e substituídos pelos seguintes (**Figura 1**):

1. promotor e potenciador da transtirretina (TTR) específica do fígado
2. um intrão do vírus símio 40 (SV40)
3. transgene ATP7B-MBD456 humano: versão modificada de ATP7B contendo apenas os últimos 3 dos 6 domínios de ligação a metais (ATP7B-MBD456)
4. sequência de poliadenilação (poliA) do SV40.

O UX701 não contém genes codificadores virais nativos. Toda a casete de expressão é ladeada por repetições terminais invertidas derivadas do AAV tipo 2.

A remoção dos genes *rep* e *cap* virais torna o UX701 incompetente para replicação, mesmo na presença de um vírus auxiliar como o adenovírus. Para se replicar, o UX701 exigiria a presença de um



AAV do tipo selvagem e infecção concomitante com um vírus auxiliar (adenovírus ou vírus do herpes).

### **Estabilidade genética do OGM**

O vírus adeno-associado é um vírus de ADN de cadeia única, que demonstra um elevado grau de estabilidade genética, conforme evidenciado pela relação próxima dos genes rep e cap de múltiplos serotipos de AAV. Normalmente, o gene rep mostra uma maior conservação da sequência do que as sequências de genes cap, mas frequentemente são > 90% e > 80% para os genes rep e cap, respetivamente. Além disso, o AAV usa polimerases do ADN hospedeiro para replicação viral, que são caracterizadas por polimerização de ADN de alta fidelidade e atividade adicional de revisão da exonuclease, levando a uma taxa de erro de replicação de ADN muito baixa, quando comparadas, por exemplo, com as polimerases de ARN usadas pelos vírus de ARN.

Em apoio da estabilidade genética, observa-se que os episomas de ADN proviral AAV isolados de múltiplas amostras de tecido humano têm consistentemente a sequência canónica prevista de rep e cap AAV2. Pensa-se que a recombinação homóloga ocorreu entre os serotipos AAV2 e AAV3, com base na análise filogénica do vírus híbrido AAV2/3, mas não foi observada em outros serotipos, apoiando a tese de que apenas na presumível circunstância rara em que uma célula é infetada simultaneamente por dois serotipos diferentes de AAV e um vírus auxiliar (infecção tripla) as condições seriam apropriadas para que ocorresse essa recombinação.

Com base nisto, também se prevê que o UX701 seja geneticamente estável. Além disso, cada lote do medicamento UX701 destinado a utilização neste ensaio clínico é sujeito a testes. Estes testes, que podem ser usados como representativos da estabilidade genética, incluem:

- Identidade genómica: O genoma do vetor UX701 contém a sequência de codificação funcional de ATP7B humana, que é medida por um ensaio de reação em cadeia da polimerase de gotículas (ddPCR) que visa a região única do genoma do UX701. Todos os lotes do princípio ativo são sujeitos a este teste.
- Identidade da cápside: É utilizado o método de cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS) para verificar a identidade do serotipo do AAV9 por análise de massa precisa das proteínas virais (VP) individuais que constituem a partícula de AAV. Todos os lotes do princípio ativo são sujeitos a este teste.
- Sequenciação do ADN do genoma do vetor: Este teste é realizado para confirmar a fidelidade da sequência do ADN empacotado. O ADN genómico submetido a hibridação foi cortado, ligado a adaptadores de sequenciação e sequenciado com o instrumento Illumina Miseq. As leituras de sequenciação resultantes foram alinhadas com a sequência de referência do UX701. A sequência foi confirmada e não foram descobertas variações relativamente à sequência de referência na região de codificação para lotes do PA 20HT879001 e U701-250P-W19-10. Outros lotes não foram sequenciados.

### **2.5. Descrição do folheto**

*Deve ser descrita a cassete de expressão, por exemplo, transgene, incluindo sequências reguladoras e de codificação. Em particular, deve ser explicado se o produto expresso é tóxico ou de outro modo prejudicial para os humanos (que não o participante do ensaio clínico) ou outros hospedeiros. Além disso, se o requerente considerar que o transgene poderá conferir qualquer vantagem para replicação/sobrevivência do vetor clínico (em relação ao vírus parental), isto deve ser explicado.*

---

### **Descrição da cassete de expressão**

Consulte a **Tabela 1** e a secção 2.4 relativas à descrição do transgene e suas sequências reguladoras.

### **Risco de toxicidade do transgene**

O vetor viral não contém nenhuma sequência viral, exceto as ITR, que facilitam a expressão do transgene e não levam à produção de partículas virais ou replicação do ADN.

Os estudos de toxicidade não clínica, incluindo um estudo não BPL de toxicidade de dose única e um estudo BPL de toxicidade e biodistribuição em ratinhos C57BL/6J do tipo selvagem, estudos pivô de farmacologia e farmacologia exploratória em ratinhos tx-J e um estudo de macacos cinomolgos, não demonstraram qualquer efeito adverso do UX701 na dose pretendida. A proteína codificada é uma versão encurtada de uma proteína que ocorre naturalmente. Não foram inseridos genes para toxinas, oncogenes potenciais, fatores de crescimento ou outros genes que poderiam ser potencialmente prejudiciais no OGM. Ao contrário dos vetores adenovirais, os vetores fabricados a partir de AAV não contém genes virais, aumentando ainda mais a sua segurança. Com a administração de UX701 em humanos, as únicas proteínas estranhas não humanas às quais o sistema imunitário será exposto são as proteínas da cápside viral.

### **Risco de vantagem seletiva para o OGM**

O recetor foi modificado a partir do organismo parental (AAV) para ser incompetente para replicação após deleção dos genes *rep* e *cap* e não contém quaisquer sequências virais (exceto ITR). Não consegue recombinar-se com o vírus do tipo selvagem para gerar novas estirpes estáveis do vírus. Assim, a replicação do UX701 só pode ocorrer na eventualidade de uma célula hospedeira transduzida ser coinfetada com três vírus separados: UX701, AAV do tipo selvagem e um vírus auxiliar, como o adenovírus ou o vírus do herpes simplex. A probabilidade de ocorrer de acordo com as condições do ensaio clínico proposto é insignificante. Não existe qualquer fundamento para considerar que a adição da região de codificação beta do transgene do transportador de cobre adenosina trifosfatase humana contendo apenas os últimos 3 domínios de ligação a metais (ATP7B-MBD456) ao OGM promoveria qualquer seleção pós-libertação para aumento da invasividade ou qualquer outra vantagem seletiva. Por conseguinte, não é conferida qualquer vantagem competitiva ao OGM em relação ao organismo parental.

## **2.6. Biodistribuição e excreção**

*Devem ser fornecidos dados detalhados sobre a excreção de vetor clínico (incluindo informações sobre a dose administrada, a via de administração e - sempre que disponível - o estado imunitário dos participantes tratados) de ensaios clínicos anteriores com o vetor clínico. Sempre que possível, e se for pertinente para a avaliação dos riscos ambientais, devem ser fornecidos dados de biodistribuição.*

*Se não houver experiência clínica anterior com o mesmo vetor clínico, o potencial para excreção deve ser discutido com base em dados não clínicos e/ou experiência clínica de vetores clínicos relacionados. Se o requerente depender de dados de vetores clínicos relacionados, a relevância dos dados para o produto objeto deste pedido deve ser explicada considerando, em particular, a dose e a via de administração. Quando ocorre excreção, a duração estimada deve ser especificada.*

*Devem ser fornecidos os métodos utilizados para a deteção da excreção viral, incluindo informações sobre a especificidade e sensibilidade do mesmo.*

### **Informação sobre a dose administrada e via de administração**

No ensaio UX701-CL301, o UX701 é administrado como uma perfusão intravenosa única. De acordo com as instruções contidas no protocolo do estudo, os participantes que serão aleatorizados para as coortes de tratamento com UX701 irão receber:

- Dose 1:  $5,0 \times 10^{12}$  GC/kg,
- Dose 2:  $1,0 \times 10^{13}$  GC/kg, ou
- Dose 3:  $2,0 \times 10^{13}$  GC/kg.

### **Estado imunitário dos participantes**

Espera-se que os participantes sejam imunocompetentes. Um critério de exclusão para os participantes participarem no ensaio UX701-CL301 é o historial de infeção pelo vírus da imunodeficiência humana.

### **Resposta humoral**

Os participantes com teste positivo para anticorpos preexistentes contra a cápside do AAV9, com base no limiar determinado pelo laboratório central, são excluídos do ensaio UX701-CL301, pois isso poderia conduzir a uma menor eficiência de transdução celular e a um risco de uma resposta imunitária adversa.

Em doentes que testem negativo para anticorpos contra o AAV9 antes do tratamento, espera-se que a administração de vetores AAV leve à produção de uma resposta imunitária humoral ao AAV.

Os anticorpos direcionados contra a cápside do vetor poderão afetar a resposta a uma administração subsequente do vetor, e os participantes num ensaio que recebam o UX701 poderão ser excluídos de tratamento subsequente com este vetor e, potencialmente, outros vetores AAV. Os anticorpos direcionados contra proteínas da cápside não são patogénicos.

Foi observado o desenvolvimento de anticorpos anti-ATP7B no estudo de toxicidade de BPL em ratinhos do tipo selvagem. É de esperar que os animais produzam uma resposta imunitária a uma proteína estranha (humana), e isto não é necessariamente preditivo das respostas em humanos. No entanto, existe um baixo risco potencial de desenvolvimento de anticorpos anti-ATP7B e subsequente perda de hepatócitos e declínio na expressão do transgene após a administração do UX701.

### **Resposta das células T**

Resposta mediada por células T e aumento transitório na aminotransferase hepática. O AA relacionado com o produto mais frequente observado em estudos clínicos com transferência genética mediada por AAV foi um aumento assintomático transitório nas transaminases hepáticas e declínio concomitante na expressão transgénica aproximadamente 7 a 10 semanas após a administração do vetor (Manno 2006, Nathwani 2011a, Nathwani 2014). Em todos os casos, o aumento transitório das transaminases hepáticas resolveu-se sem sequelas clínicas. Colocou-se a hipótese de que esta hepatite viral induzida por vetores se deve à ativação de linfócitos T citotóxicos específicos da cápside (CTL) e destruição de células hepáticas transduzidas (Mingozzi 2007). No entanto, em ratinhos, as células T ativadas contra a cápside do AAV não conseguiram ter como alvo e eliminar hepatócitos transduzidos (Wang 2007, Li 2007, Siders 2009), a menos que o genoma do AAV do tipo selvagem estivesse presente (Li 2007). Para garantir que as elevações potenciais das transaminases hepáticas são monitorizadas atentamente, foram incorporadas medidas de segurança adequadas no estudo. Os testes à função hepática serão avaliados como parte da química clínica, permitindo a rápida deteção de quaisquer elevações após a administração do UX701; estará disponível no centro um plano de tratamento para minimizar esta potencial resposta imunitária, caso ocorra.

**Risco mínimo de mutagénese insercional:** Os dados de ratinhos, cães, primatas não humanos e

humanos sugerem que a integração de vetores AAV no genoma hospedeiro é um acontecimento raro, em que a maioria do vetor se assimila em epissemas concateméricos. Ao contrário dos vetores retrovirais, que codificam proteínas virais para criar quebras de cadeia dupla, quando ocorre a integração do AAV, este fá-lo em quebras cromossômicas preexistentes. Os resultados da integração são deleções nas ITR do AAV e duplicações das sequências do hospedeiro. Dado o tropismo tecidual do AAV9 e os resultados dos estudos não clínicos, o maior potencial de integração está dentro dos hepatócitos. Em estudos em animais e amostras humanas, não foi estabelecida qualquer correlação clara entre a integração genômica de AAV recombinante e o desenvolvimento de CHC. Além disso, a proteína do transgene UX701 (ATP7B-MBD456) não é um fator de crescimento que possa promover a progressão do tumor, e não está envolvida em vias biológicas que possam iniciar a tumorigênese, como os oncogenes.

### **Biodistribuição**

#### **Estudo de toxicidade e biodistribuição de dose única em conformidade com as BPL após uma injeção intravenosa de UX701 em ratinhos (UX701-20-0001)**

Foi realizado um estudo de toxicidade e biodistribuição em conformidade com as BPL de 3 meses em ratinhos C57BL/6J adultos (9 a 11 semanas de idade), para caracterizar a potencial toxicidade e biodistribuição do UX701 após uma única dose IV e um período de observação de 4, 29 ou 92 dias. O artigo em teste utilizado no estudo é semelhante ao material clínico final antecipado, com pequenas modificações no processo de fabrico.

Foi administrada a ratinhos C57BL/6J machos e fêmeas uma dose única de UX701 ou veículo uma vez no Dia 1, por injeção IV na veia da cauda. Os níveis de dose do UX701 foram de  $2,0 \times 10^{13}$ ,  $6,0 \times 10^{13}$  e  $2,0 \times 10^{14}$  GC/kg para os grupos de toxicidade e de  $6,0 \times 10^{13}$  GC/kg para o grupo de biodistribuição. Estas doses foram selecionadas com base em dados do estudo de toxicidade não BPL em ratinhos adultos e juvenis e no intervalo de dose clínica proposto ( $5,0 \times 10^{12}$  a  $2,0 \times 10^{13}$  GC/kg). A dose mais baixa neste estudo BPL em ratinhos ( $2,0 \times 10^{13}$  GC/kg) é equivalente à dose clínica mais elevada proposta. As doses média e alta são, aproximadamente, 3 a 10 vezes mais altas do que a dose clínica mais elevada proposta, respetivamente. O desenho do estudo é apresentado na **Tabela 5**. A biodistribuição foi avaliada na dose média, devido ao potencial de saturação do fígado com UX701 na dose elevada.

**Tabela 5: Desenho do estudo UX701-20-0001**

Coorte	Número do grupo	Material de teste	Nível de dose (GC/kg)	Número de ratinhos (Machos/Fêmeas)			
				Dia 1 <sup>a</sup>	Dia 4	Dia 29	Dia 92 <sup>b</sup>
Biodistribuição	1	Veículo <sup>c</sup>	0	5/5	20/20	20/20	20/20 + 10
Toxicidade	2	UX701 (dose baixa)	$2,0 \times 10^{13}$	5/5	15/15	15/15	15/15 + 10
Toxicidade/ Biodistribuição	3	UX701 (dose média)	$6,0 \times 10^{13}$	5/5	20/20	20/20	20/20 + 10
Toxicidade	4	UX701 (dose elevada)	$2,0 \times 10^{14}$	5/5	15/15	15/15	15/15 + 10

<sup>a</sup> Os animais foram submetidos a colheita de sangue para avaliar as citocinas 4 horas após a dose no Dia 1.

<sup>b</sup> Foram incluídos 10 animais/sexo/grupo adicionais no Dia 92 para colheita de sangue, para análise de citocinas (5 animais/sexo/grupo) e para avaliação de anticorpos neutralizadores anti-AAV e anti-ATP7B (5 animais/sexo/grupo)

<sup>c</sup> Tampão veículo para UX701: 0,01% p/v Plurônico F-68, 20 mM Tris, 200 mM NaCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8,0 ± 0,2 GC, cópias de genoma.

Para biodistribuição (5 animais/sexo/grupo), foram colhidos sangue e 11 tecidos (cérebro, coração, local da injeção, rim, fígado, pulmão, músculo, pâncreas, baço, ovário e testículos) nos Dias 4, 29 e 92, e analisados para detecção de ADN do genoma do vetor e ARNm de ATP7B-MBD456.

No Grupo 3, o ADN do genoma do vetor UX701 estava amplamente distribuído em todos os tecidos examinados do Dia 4 ao Dia 92, exceto no sangue total, que não apresentava níveis mensuráveis no Dia 92. A biodistribuição do UX701 é apresentada para animais machos (**Figura 3**) e fêmeas (**Figura 4**). O fígado continha o nível mais elevado de genomas do vetor em todos os pontos temporais após a injeção, exceto nas fêmeas no Dia 4, nas quais os níveis mais elevados foram encontrados no sangue. As cópias do genoma do vetor no fígado persistiram, geralmente, no decurso do estudo. Os ratinhos machos apresentaram ligeiros aumentos dos níveis do genoma do vetor no fígado ao longo dos 3 pontos temporais ( $1,14 \times 10^7$ ,  $1,23 \times 10^7$ ,  $2,11 \times 10^7$  GC/ $\mu$ g de ADN), enquanto os ratinhos fêmeas revelaram níveis do genoma do vetor ligeiramente inferiores no Dia 29 ( $3,36 \times 10^6$  GC/ $\mu$ g de ADN) comparativamente com o Dia 4 e o Dia 92 ( $1,11 \times 10^7$  e  $5,79 \times 10^6$  GC/ $\mu$ g de ADN, respetivamente). As diferenças nos níveis do genoma do vetor entre o Dia 29 e o Dia 92 em machos e fêmeas não foram consideradas significativas, dada a variabilidade conhecida do método qPCR. Para todos os outros tecidos, incluindo gónadas, foi observada uma diminuição na concentração de ADN do genoma do vetor UX701 entre o Dia 4 e o Dia 92. Em tecido não hepático, os níveis de ADN do genoma do vetor UX701 tenderam a ser mais elevados nas fêmeas do que nos machos no Dia 4, e foram geralmente semelhantes no Dia 29 e no Dia 92, exceto no caso do sangue, onde os níveis nas fêmeas foram mais elevados no Dia 29 (**Figura 3**, **Figura 4**). O ADN do genoma do vetor UX701 distribuiu-se para as gónadas de animais machos e fêmeas, mas a um nível aproximadamente 100 a 1000 vezes inferior ao do fígado e diminuiu ao longo dos 3 pontos temporais medidos.

Figura 3: Biodistribuição de ADN do genoma do vetor UX701 em tecido de ratinhos machos C57BL/6J nos Dias 4, 29 e 92 após uma administração única de  $6 \times 10^{13}$  GC/kg de UX701

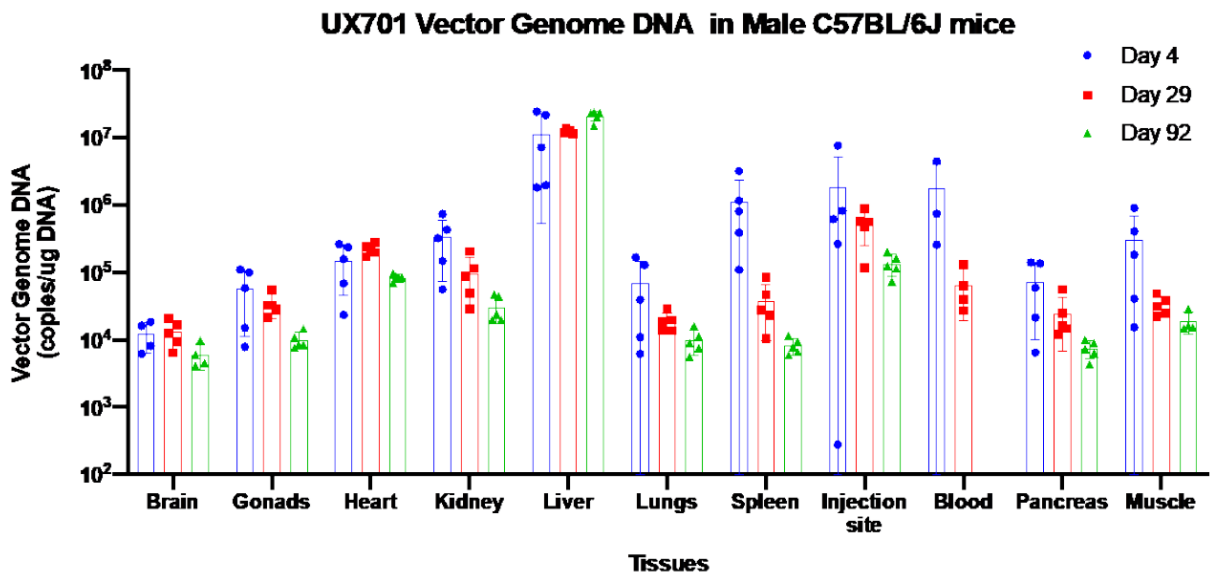
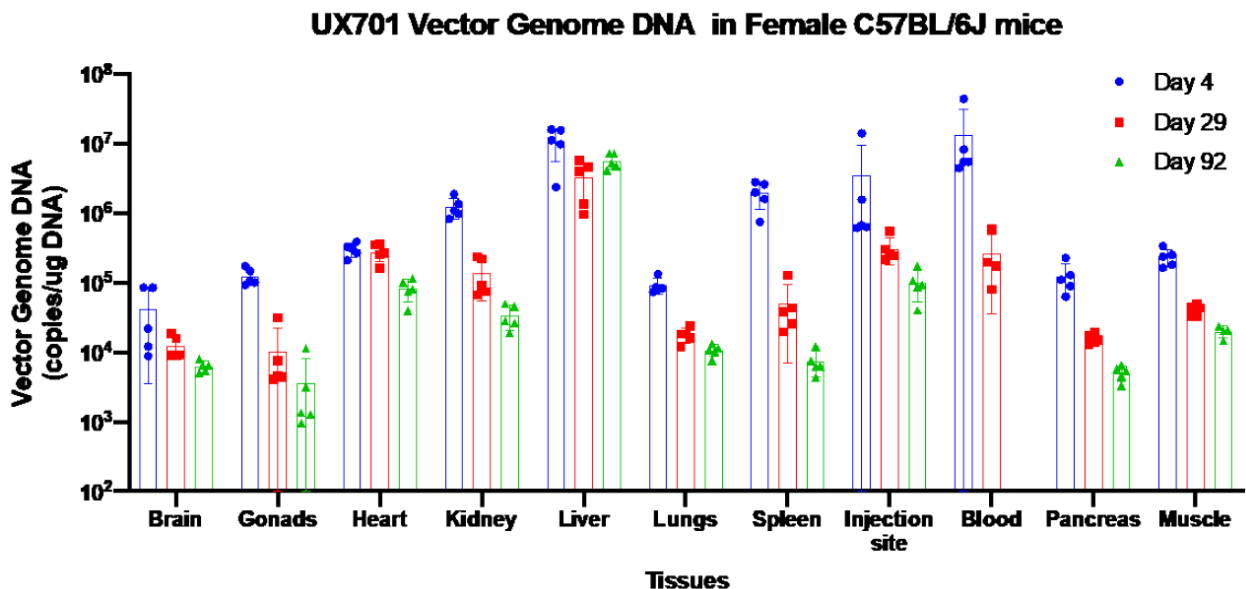


Figura 4: Biodistribuição de ADN do genoma do vetor UX701 em tecido de ratinhos fêmeas C57BL/6J nos Dias 4, 29 e 92 após uma administração única de  $6 \times 10^{13}$  GC/kg de UX701



A expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 em animais machos e fêmeas é apresentada na **Figura 5** e na **Figura 6**, respectivamente. O ARNm de ATP7B-MBD456 estava ausente ( $< LIQ$ ) em todas as amostras testadas do Grupo 1. No Grupo 3, foram encontrados níveis mensuráveis de ARNm de ATP7B-MBD456 no fígado em todos os 3 pontos temporais. A expressão em outros tecidos foi esporádica, com vários tecidos a apresentar expressão detetável de ARNm de ATP7B em apenas 1 de 5 animais. No Dia 4, a expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 foi mensurável em todos os tipos de tecido, exceto cérebro, com detecção em mais de 1 animal apenas no local da injeção, sangue, coração, fígado e baço. Apenas no Dia 29, fígado, coração (1 de 5 ratinhos), local da injeção e ovários (1 de 5 ratinhos), e apenas no Dia 92, local da injeção apenas (1 de 5 ratinhos) e fígado, tinham níveis detetáveis de ARNm de ATP7B.

Todos os outros tecidos estavam abaixo do LIQ.

O sangue total e testículos (1 de 5 ratinhos) revelaram a concentração mais elevada de ARNm de ATP7B-MBD456 no Dia 4. O fígado revelou a expressão mais elevada no Dia 29 e no Dia 92, com expressão no Dia 29 ( $1,57 \times 10^5$  e  $6,88 \times 10^4$  GC/ $\mu$ g de ADN em machos e fêmeas, respetivamente) a aumentar aproximadamente 5 a 10 vezes, comparativamente com o Dia 4 ( $1,20 \times 10^4$  e  $1,38 \times 10^4$  GC/ $\mu$ g de ADN), e a aumentar ainda mais ligeiramente no Dia 92 ( $2,14 \times 10^5$  e  $1,05 \times 10^5$  GC/ $\mu$ g de ADN). A expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 foi considerada comparável no Dia 29 e no Dia 92 com base na variabilidade do ensaio. A expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 no fígado foi mais baixa em ratinhos fêmeas do que em ratinhos machos no Dia 29 e no Dia 92 e semelhante no Dia 4, conforme esperado com base nos níveis de ADN do genoma do vetor no fígado. O único outro tecido que mostrou um aumento na concentração de ARNm no Dia 29 foi o ovário em 1 animal, mas a concentração de ARNm foi reduzida para valores abaixo do LIQ no Dia 92.

**Figura 5: Expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 em tecido de ratinhos machos C57BL/6J nos Dias 4, 29 e 92 após uma administração única de  $6 \times 10^{13}$  GC/kg de UX701**

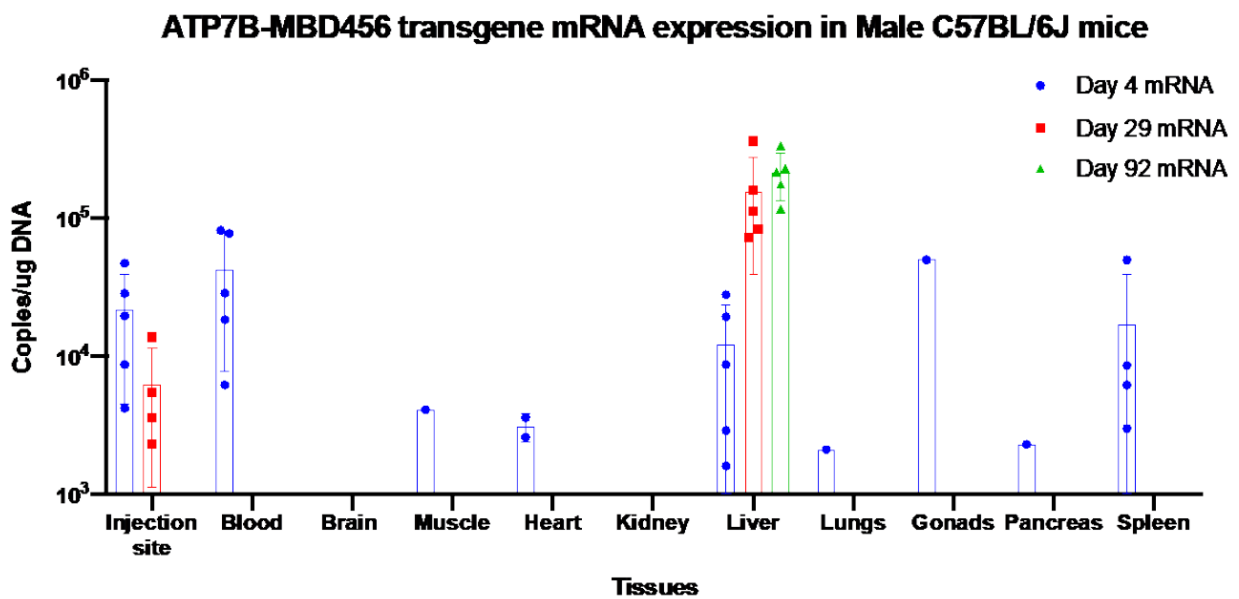
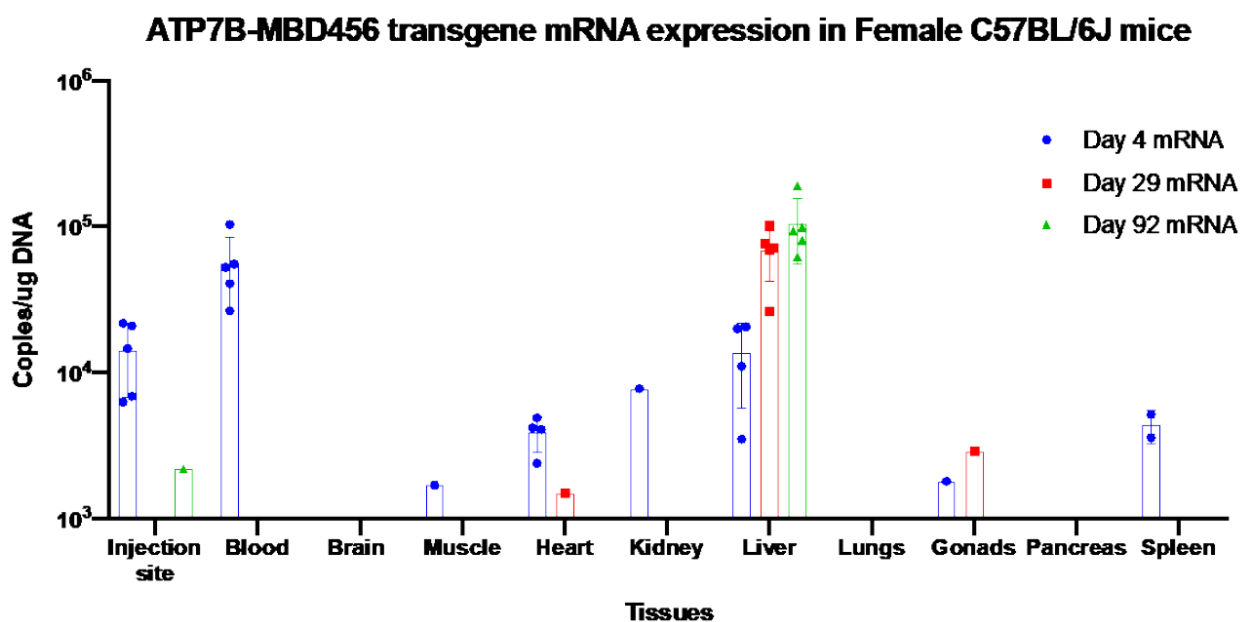


Figura 6: Expressão de ARNm de ATP7B-MBD456 em tecido de ratinhos fêmeas C57BL/6J nos Dias 4, 29 e 92 após uma administração única de  $6 \times 10^{13}$  GC/kg de UX701



### Excreção

Não foram realizados estudos não-clínicos para avaliar a excreção de UX701.

A excreção de vetor através da saliva, urina e fezes será avaliada durante o estudo UX701-CL301. Para todos os participantes aleatorizados na Fase 1, serão colhidas amostras de saliva, urina e fezes para análise de excreção do vetor em pontos temporais especificados (situação basal, S1-S4, S6, S12, S24, S36, S52 e na consulta de conclusão antecipada, se aplicável) e até que uma dose seja selecionada para a Fase 2. Subsequentemente, cada tipo de amostra continuará a ser colhido de um determinado participante em pontos temporais específicos (pré-dose 2, S53-S56, S58, S64, S76, S88, S104/consulta de Fim do Estudo e na consulta de retirada antecipada, se aplicável) até que sejam obtidos, pelo menos, 3 resultados negativos consecutivos para o tipo de amostra.

Os estudos clínicos com outras terapêuticas genéticas com AAV demonstraram que ocorre excreção transitória do vetor após a administração IV de vetores AAV recombinantes; no entanto, prevê-se que os riscos associados à excreção do vetor sejam insignificantes. O AAV do tipo selvagem não tem patologia associada conhecida e não consegue replicar-se sem um vírus auxiliar. O UX701 é um vetor AAV9 recombinante não replicante com elevado tropismo hepático e um promotor específico do fígado, do qual os genes AAV nativos necessários para replicação foram removidos e substituídos por uma cassete de transgene. O processo de libertação do produto UX701 inclui testes para confirmar que o UX701 não inclui partículas de AAV9 competentes para replicação.



### SECÇÃO 3 – INFORMAÇÕES RELACIONADAS COM O ENSAIO CLÍNICO

#### 3.1. Informações gerais sobre o ensaio clínico.

<b>Número EudraCT (sempre que disponível):</b>	2020-005266-34
<b>Número de referência de libertação deliberada (sempre que disponível e aplicável):</b>	Não aplicável
<b>Título do ensaio clínico:</b>	Estudo clínico Multicêntrico de Fase 3, Aleatorizado, em Dupla Oculação, Controlado por Placebo, Contínuo e Adaptativo, para determinação de dose e segurança da Transferência Genética mediada por UX701-AAV para o Tratamento da Doença de Wilson
<b>Nome do investigador principal:</b>	Esta informação pode ser fornecida no anexo com informações confidenciais.
<b>Objetivo do estudo:</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Avaliar a segurança de doses IV únicas de UX701 em doentes com doença de Wilson</li><li>• Selecionar a dose de UX701 com o melhor perfil de benefício/risco com base na totalidade dos dados de segurança e eficácia na Semana 52</li><li>• Avaliar o efeito do UX701 na regulação do cobre com base na concentração urinária de cobre de 24 horas e redução percentual na medicação dos cuidados habituais na Semana 52</li></ul>
<b>Data de início e data de fim pretendidas:</b>	Q1 2021 – Q3 2027
<b>Número de participantes no ensaio que irão participar no estudo:</b>	Aproximadamente 90 participantes a nível global
<b>Indique se foi apresentado ou se está prevista a apresentação de um pedido relacionado com o mesmo medicamento experimental em outros Estados-Membros do EEE. Em caso afirmativo, identifique os países onde isto acontecerá:</b>	Estão planeadas submissões para 2021 nos seguintes países do EEE: Áustria, Bélgica, Dinamarca, França, Alemanha, Itália, Polónia, Portugal, Espanha, Reino Unido

#### 3.2. Local(is) pretendido(s) para o estudo.

*O requerente deve fornecer informações sobre os centros localizados no país de submissão do pedido.*

*Em algumas jurisdições, devem ser fornecidas as seguintes informações adicionais:*

- *deve(m) ser indicado(s) o(s) local(ais) dos laboratórios (no país de submissão) em que as atividades com o OGM são realizadas, de acordo com o enquadramento do pedido de ensaio clínico.*<sup>7</sup>
- *informações sobre o local onde o medicamento experimental está armazenado (na medida em que o local é no país de envio, mas fora do centro clínico).*<sup>8</sup>
- *informações sobre o local onde as amostras do doente que contêm OGM são armazenadas (na medida em que o local é país de envio, mas fora do centro clínico).*<sup>9</sup>

<b>Organização Nome:</b>	Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, EPE - Hospital de Santa Maria
<b>Detalhes da morada:</b>	Av. Professor Egas Moniz 1649-035 Lisboa, Portugal
<b>Pessoa de contacto:</b>	Investigador Principal: Sofia Carvalhana
<b>N.º de telefone:</b>	217 805 000
<b>Endereço de e-mail:</b>	sofiacarvalhana@msn.com
<b>Atividades planeadas:</b>	Seleção, inclusão e seguimento dos doentes Administração do medicamento experimental (ME) no serviço em que o doente está a ser seguido Preparação e armazenamento do ME na farmácia do centro
<b>Nível de contenção:</b>	Nível de segurança biológica 1.  A sala de manuseamento para produtos OGM/MGM é uma sala limpa, com extração de ar a 100%. Na sala existe uma câmara de ar de fluxo laminar vertical também com extração de ar a 100%, Classe II B2.
<b>Nome e detalhes de contacto da pessoa responsável<sup>10</sup>:</b>	Nome do IP: Sofia Carvalhana Detalhes de contacto: 217 805 000  Pessoa responsável nos serviços farmacêuticos: Dr. Ana Paula Carrondo Contacto telefónico: +351 217 805 056 E-mail: ana.carrondo@chln.min-saude.pt

<b>Organização Nome:</b>	Centro Hospitalar Universitário de São João E.P.E
<b>Detalhes da morada:</b>	Centro Hospitalar Universitário de São João, E.P.E. Alameda Professor Hernâni Monteiro 4200-319 Porto
<b>Pessoa de contacto:</b>	Investigador Principal: Dr. Guilherme Macedo
<b>N.º de telefone:</b>	+351253209000
<b>Endereço de e-mail:</b>	guilhermemacedo59@hotmail.com
<b>Atividades planeadas:</b>	Seleção, inclusão e seguimento dos doentes Administração do medicamento experimental (ME) no serviço em que o doente está a ser seguido Preparação e armazenamento do ME na farmácia do centro
<b>Nível de contenção:</b>	Nível de biossegurança 1.  A sala de manuseamento do produto é uma sala limpa, com câmara de fluxo laminar vertical Classe II tipo A2 (as especificações ISO5 são cumpridas).
<b>Nome e detalhes de contacto da pessoa responsável<sup>10</sup>:</b>	Nome do IP: Dr. Guilherme Macedo Detalhes de contacto: +351253209000 E-mail: <a href="mailto:guilhermemacedo59@hotmail.com">guilhermemacedo59@hotmail.com</a>  Pessoa responsável nos serviços farmacêuticos: Dr. Pedro Soares Contacto telefónico: 924 467 645

*(O requerente deve preencher tantas tabelas quantas as necessárias)*

<sup>7</sup> As informações sobre a localização dos laboratórios são necessárias para pedidos submetidos na Áustria, Bélgica, Croácia, República Checa, Dinamarca, Finlândia, França, Alemanha, Hungria, Irlanda, Portugal e Espanha. Em caso de pedidos a estas jurisdições, preencha a tabela relevante para laboratórios que realizem análises especializadas referidas apenas no protocolo do ensaio clínico; não é necessário listar os laboratórios que realizem análises de diagnóstico laboratorial padrão.

<sup>8</sup> Esta informação deve ser fornecida para pedidos apresentados na Croácia, Alemanha, Irlanda e Espanha. Estas informações devem ser fornecidas para pedidos apresentados na Bélgica, República Checa e Finlândia, exceto se existir uma notificação de utilização contida que abranja o armazenamento do produto.

<sup>9</sup> Esta informação deve ser fornecida para os pedidos apresentados na Alemanha e Irlanda.

<sup>10</sup> A pessoa responsável é a pessoa responsável pela supervisão e segurança, conforme previsto no Anexo V da Diretiva 2009/41/CE, ou o cientista responsável, conforme previsto no Anexo IIIA da Diretiva 2001/18/CE.

### **3.3. Armazenamento do vetor clínico no centro clínico.**

*O requerente deve fornecer informações sobre o local de armazenamento, as condições de armazenamento (incluindo restrições de acesso) e a duração máxima de armazenamento.<sup>11</sup>*

---

#### Centro do estudo 1:

Local de armazenamento: Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, EPE - Hospital de Santa Maria  
Av. Professor Egas Moniz 1649-035 Lisboa, Portugal

Condições de armazenamento: O UX701 tem de ser armazenado num congelador seguro a uma temperatura controlada  $\leq -60$  °C. É necessária monitorização contínua da temperatura onde o UX701 estiver armazenado. Se o registo não puder ser preenchido aos fins de semana, tem de existir um método para determinar se ocorreu uma variação de temperatura. Serão recolhidas cópias do registo de temperatura pelo Monitor de Farmácia Sem Ocultação. Apenas a equipa do estudo autorizada deverá ter acesso ao UX701.

Duração máxima de armazenamento do ME no centro: o produto experimental será armazenado de acordo com as instruções fornecidas para o estudo no que diz respeito à duração de armazenamento.

#### Centro do estudo 2:

Local de armazenamento: Centro Hospitalar Universitário de São João, E.P.E.  
Alameda Professor Hernâni Monteiro  
4200-319 Porto

Condições de armazenamento: O UX701 tem de ser armazenado num congelador seguro a uma temperatura controlada  $\leq -60$  °C. É necessária monitorização contínua da temperatura onde o UX701 estiver armazenado. Se o registo não puder ser preenchido aos fins de semana, tem de existir um método para determinar se ocorreu uma variação de temperatura. Serão recolhidas cópias do registo de temperatura pelo Monitor de Farmácia Sem Ocultação. Apenas a equipa do estudo autorizada deverá ter acesso ao UX701.

Duração máxima de armazenamento do ME no centro: o produto experimental será armazenado de acordo com as instruções fornecidas para o estudo no que diz respeito à duração de armazenamento.

### **3.4. Logística para transporte no centro do vetor clínico.**

*O requerente deve fornecer informações sobre a logística para transporte interno (ou seja, transferência do vetor clínico do local de armazenamento para o local de administração e – sempre que aplicável – local onde a dose é preparada). O requerente deve fornecer informações sobre as características dos recipientes utilizados, abordando também os procedimentos de desinfecção aplicados e rotulagem dos recipientes.*

---

#### Envio:

O envio de UX701 específico para cada participante será agendado de modo a chegar antes do dia da administração da dose. O UX701 será enviado para o centro em uma ou mais embalagens de envio, que conterão frascos para injetáveis 6R embalados individualmente, que terão um volume extraível de 3 ml. O número de frascos para injetáveis de UX701 enviados para o centro é variável, dependendo do peso do participante, e pode ser entre 3 e 24 frascos para injetáveis. O envio será realizado utilizando uma embalagem de envio qualificada, gelo seco e dois monitores de temperatura para ajudar a garantir que a temperatura de envio permanece  $\leq -60$  °C.

#### Preparação:

Em conformidade com o Manual de Farmácia, manipulado assepticamente numa câmara de segurança biológica (biological safety cabinet, BSC) ou noutro dispositivo de Controlo de Engenharia Primário (Primary Engineering Control, PEC) adequado (ou seja, exaustor de fluxo horizontal ou isolador de composição).

#### Transporte no local:

O UX701 é armazenado em frascos de vidro 6R fechados de 6 ml que têm de ser armazenados na vertical. Serão seguidas as práticas institucionais locais para o transporte de material com risco biológico.

#### Características dos recipientes:

Os recipientes têm de cumprir os requisitos de acordo com as orientações locais relativas ao transporte de agentes de Nível 1 de Segurança Biológica (BSL1) (o ME é Grupo de Risco 1). No mínimo, os frascos para injetáveis de ME serão colocados num saco fechado com fecho de correr e colocados num recipiente resistente e à prova de derrames, marcado com um símbolo de risco biológico.

#### Rotulagem dos recipientes:

Cada embalagem contendo um frasco para injetáveis de UX701 está claramente rotulada de acordo com os requisitos relevantes da Autoridade Reguladora para o ME. Cada frasco de vidro também possui um rótulo individual. Os frascos para injetáveis (não utilizados e utilizados) devem ser armazenados na embalagem, de acordo com as instruções e a contabilização detalhadas no Manual de Farmácia.

#### Procedimentos de desinfecção:

*Na eventualidade de o conteúdo do(s) frasco(s) de UX701 ou de o medicamento diluído para perfusão ser acidentalmente libertado e entrar em contacto com materiais de envio ou superfícies de farmácia/hospitalares, o derrame deve ser descontaminado e removido de acordo com as práticas institucionais.*

Os consumíveis (incluindo mas não limitados a luvas, máscaras, seringas, agulhas e tubos) e todos os materiais descartáveis que entrem em contacto com o medicamento experimental devem ser eliminados de acordo com as políticas e práticas institucionais individuais. Por exemplo, os materiais são eliminados em recipientes para objetos perfurocortantes ou sacos de risco biológico e

descontaminados por autoclave ou incineração, ou ambos.

Os materiais não descartáveis devem ser descontaminados em conformidade com os requisitos institucionais locais.

Uma vez concluída a contabilização do medicamento do estudo, os frascos de ME usados e não usados devem ser devolvidos ao fornecedor responsável pelo depósito clínico e envio do ME (Serviços Clínicos da Almac) ou descontaminados de acordo com a prática institucional.

Os resíduos líquidos devem ser descontaminados e eliminados de acordo com a prática institucional.

### 3.5. Informação sobre reconstituição, medicamento acabado e administração a doentes.

<b>Reconstituição (sempre que aplicável, resumir os passos de reconstituição):</b>	Para uso clínico, o medicamento é descongelado à temperatura ambiente e filtrado de forma assética e diluído em solução salina estéril (solução de cloreto de sódio a 0,9%).
<b>Forma e potência farmacêutica:</b>	O medicamento é fornecido em frascos para injetáveis de 3,5 ml/frasco, numa concentração $\geq 1,1 \times 10^{13}$ GC/ml. A concentração será específica do lote.
<b>Modo de administração:</b>	Perfusão intravenosa.
<b>Informações sobre posologia e calendário de administração (em caso de dosagem repetida):</b>	O ME será administrado como uma perfusão única. Durante a fase de seleção de dose do estudo, serão avaliados os seguintes níveis de dose: <ul style="list-style-type: none"><li>• Dose 1: <math>5,0 \times 10^{12}</math> GC/kg</li><li>• Dose 2: <math>1,0 \times 10^{13}</math> GC/kg</li><li>• Dose 3: <math>2,0 \times 10^{13}</math> GC/kg</li></ul>
<b>Informação sobre medicação concomitante que possa afetar a excreção do vetor clínico/riscos ambientais (por exemplo, administração de laxantes, administração de um medicamento que possa melhorar a atividade de replicação do vetor clínico, de um medicamento à base de plasmídeos):</b>	Não aplicável.

<sup>11</sup> No caso de pedidos apresentados na Áustria, Bélgica, Croácia, República Checa, Dinamarca, Finlândia, França, Irlanda, Itália, Países Baixos e Espanha, o requerente deve especificar se a dose está a ser preparada na farmácia hospitalar. Se a dose clínica for preparada num local que não a farmácia hospitalar, isto deve ser explicado.

### 3.6 Medidas para impedir a disseminação no ambiente.

**a) Medidas de controlo durante a reconstituição (se aplicável), manuseamento e administração.**

O UX701 é um agente do Grupo de Risco 1 e será preparado de forma asséptica, para administração numa câmara de segurança biológica (CSB) ou noutro dispositivo de Controlo de Engenharia Primário (PEC) adequado (ou seja, exaustor de fluxo horizontal ou isolador de composição) por profissionais médicos. O ME será administrado aos participantes do estudo sob condições controladas, em ambiente hospitalar.

**b) Equipamento de proteção individual.**

Para reduzir o risco de exposição inadvertida durante o manuseamento do UX701, a equipa do centro e todos os elementos presentes durante a preparação e administração têm de usar equipamento de proteção individual (EPI) padrão para manuseamento de um agente BSL2, em conformidade com os requisitos do Promotor. No mínimo, o EPI deve incluir bata de fecho posterior descartável, óculos de segurança, óculos ou protetor contra salpicos de muco, luvas, cobertura para o cabelo e cobertura para sapatos.

**c) Medidas de descontaminação/limpeza após a administração ou em caso de derrame acidental (ou seja, medidas de descontaminação/limpeza de materiais, superfícies e áreas potencialmente contaminados). Além disso, os procedimentos de desinfeção aplicados devem ser justificados, fornecendo evidência de que o método escolhido é suficientemente ativo contra o vetor clínico**

Na eventualidade de o conteúdo do(s) frasco(s) de UX701 ou de o medicamento diluído para perfusão ser acidentalmente libertado e entrar em contacto com materiais de envio ou superfícies de farmácia/hospitalares, o derrame deve ser descontaminado e removido de acordo com as práticas institucionais.

**d) Eliminação ou inativação das sobras de produto finalizado, no final do ensaio clínico.**

A devolução e destruição de frascos para injetáveis usados e não usados de UX701 devem ser suspensas no centro do estudo até que a contabilização do medicamento do estudo tenha sido realizada pelo Monitor de Farmácia Sem Ocultação — exceto se esta prática não estiver em linha com as políticas e procedimentos da instituição. Se os procedimentos internos da farmácia do centro não permitirem que os frascos para injetáveis utilizados, parcialmente utilizados ou desperdiçados sejam retidos para contabilização do medicamento do estudo, no mínimo, a embalagem do frasco original e os rótulos devem ser retidos para contabilização posterior pelo Promotor ou representante autorizado. Todos os frascos para injetáveis não utilizados têm de ser mantidos nas condições de conservação exigidas ( $\leq -60\text{ °C}$  [ $-76\text{ °F}$ ]); os frascos para injetáveis utilizados/parcialmente utilizados podem ser conservados à temperatura ambiente. Os frascos para injetáveis não utilizados serão devolvidos a um armazém designado, conforme necessário. Os frascos para injetáveis utilizados/parcialmente utilizados podem ser eliminados no centro de acordo com os requisitos locais, depois de o Monitor de Farmácia Sem Ocultação concluir a contabilização e dar aprovação.

Após a conclusão da contabilização do medicamento do estudo e da reconciliação de todo o medicamento do estudo fornecido ao centro, o Promotor tem de autorizar a destruição de qualquer medicamento restante ou de frascos para injetáveis vazios no centro. Se a destruição no centro não for possível, contacte o seu Monitor de Farmácia Sem Ocultação para obter instruções de devolução.

É da responsabilidade do IP: 1) garantir que o Monitor de Farmácia Sem Ocultação deu autorização por escrito, instruindo o centro clínico para destruir no local ou devolver ao depósito o número identificado de frascos para injetáveis do medicamento do estudo usados e/ou não usados, e 2) garantir que os registos apropriados da eliminação ou devolução sejam documentados e mantidos no

Dossier de Farmácia.

**e) Tratamento de resíduos (incluindo também – sempre que aplicável – descontaminação e eliminação de resíduos potencialmente contaminados que se acumulam fora do centro do ensaio clínico). Sempre que aplicável, identifique também a empresa responsável pela gestão de resíduos.**

Os consumíveis (incluindo mas não limitados a luvas, máscaras, seringas, agulhas e tubos) e todos os materiais descartáveis que entrem em contacto com o medicamento experimental devem ser eliminados de acordo com as políticas e práticas institucionais individuais. Por exemplo, os materiais são eliminados em recipientes para objetos perfurocortantes ou sacos de risco biológico e descontaminados por autoclave ou incineração, ou ambos. Os materiais não descartáveis devem ser descontaminados em conformidade com os requisitos institucionais locais.

**f) Recomendações dadas a participantes de ensaios clínicos para impedir a disseminação (sempre que aplicável).**

Os participantes incluídos e as pessoas que vivem e trabalham à sua volta serão lembrados de praticar uma boa higiene, especialmente no mês anterior e durante os primeiros 2 meses após a administração do ME.

A exposição mínima, tal como a exposição ambiental, de pessoas que não participantes no estudo não seria em dose suficiente para resultar numa expressão genética significativa em humanos. Além dos potenciais hospedeiros humanos, não se prevê que a exposição ao UX701 afete quaisquer organismos não-alvo, direta ou indiretamente. O risco para os humanos e para o ambiente associado com a excreção viral do UX701 é, portanto, insignificante.

**g) Recomendações sobre a doação de sangue/células/tecidos/órgãos pelo participante no ensaio clínico.**

Os doentes incluídos no estudo serão instruídos a não doar sangue, células, tecidos ou órgãos através do Formulário de Consentimento Informado do estudo.

**h) Outras medidas (quando aplicável).**

Não aplicável.



### 3.7. Amostragem e análises adicionais de amostras de participantes do estudo

#### a) Descreva como as amostras serão tratadas/armazenadas/transportadas.

*Na medida em que o manuseamento/armazenamento e o transporte de amostras são tratados segundo os mesmos procedimentos que o vetor clínico, pode ser feita uma referência cruzada, conforme o caso.*

---

Para as amostras a colher e enviar, serão fornecidas instruções detalhadas de colheita, processamento, armazenamento e envio, e informações de contacto ao centro do Investigador e fornecedores relevantes antes do início do estudo. Em geral, as amostras serão transportadas de acordo com os requisitos BSL1.

#### b) Indicar se e em que momento as amostras que podem conter o vetor clínico administrado são recolhidas de participantes no estudo.

##### Amostras de urina:

Na seleção, situação basal (antes da administração da dose), Semana 6, Semana 12, Semana 24, Semana 36, Semana 52 e na consulta de conclusão antecipada, se aplicável.

##### Amostras de sangue:

Na seleção, situação basal (antes e após a administração da dose), Semana 1 – Semana 4, Semana 6, Semana 8, Semana 12, Semana 14, Semana 16, Semana 18, Semana 20, Semana 24, Semana 28, Semana 32, Semana 36, Semana 40, Semana 44, Semana 48, Semana 52 e na consulta de conclusão antecipada, se aplicável.

##### Amostras para análise de excreção (saliva, urina e fezes):

Na situação basal, Semana 1 – Semana 4, Semana 6, Semana 12, Semana 24, Semana 36, Semana 52 e conclusão antecipada, se aplicável.

##### Amostras de tecido (biopsia hepática):

Na seleção e na Semana 52. A biopsia hepática do período de seleção deve ser realizada após a elegibilidade do participante para participação no estudo ser confirmada e, pelo menos, 14 dias antes da consulta da situação basal. A biopsia hepática da Semana 52 deve ser colhida de um local adjacente ao local da biopsia da seleção, utilizando a mesma técnica da biopsia da seleção.

#### c) Se as amostras forem armazenadas no centro clínico, descreva o local e as condições de armazenamento.

O UX701 tem de ser armazenado num congelador seguro a uma temperatura controlada  $\leq -60$  °C. É necessária monitorização contínua da temperatura no local onde o UX701 estiver armazenado. Se o registo não puder ser preenchido aos fins de semana, tem de existir um método para determinar se ocorreu uma variação de temperatura.

#### d) Explique se existe algum teste não rotineiro<sup>12</sup> das amostras e indique se o vetor clínico é gerado *de novo* durante o teste.

Uma biopsia hepática será opcional e, portanto, os participantes terão primeiro de fornecer o consentimento informado por escrito. As amostras de biopsia hepática serão analisadas com base na quantidade de tecido, com histopatologia e análise do conteúdo de cobre seguidas por avaliações moleculares (ou seja, ADN do genoma do vetor e ARNm do transgene). Um patologista em ocultação será responsável pela análise das amostras de biopsia hepática.

Não pode ser gerado qualquer vetor clínico durante estes testes.

<sup>12</sup> Os testes padrão de cuidados clínicos, bem como os testes necessários para o seguimento a longo prazo dos participantes nos ensaios clínicos, não precisam de ser mencionados

## SECÇÃO 4 – OUTROS REQUISITOS DE DADOS

### 4.1. Plano do(s) centro(s) em causa

*Os requerentes devem apresentar uma cópia do plano do centro onde o ensaio clínico decorre se o pedido for submetido nas seguintes jurisdições: Áustria, Bélgica, Croácia, República Checa, Finlândia, França, Hungria, Irlanda e Itália.*

---

### 4.2 Outras informações

#### **Submissões na Áustria:**

*Além do plano do centro, deve ser fornecida uma descrição da localização da autoclave – conforme apropriado – como parte da descrição das medidas para evitar a disseminação no ambiente mencionado na Secção 3.6 (d) e (e).*

#### **Submissões na Bélgica:**

*Além do plano do centro, deve ser fornecida uma descrição da localização da autoclave e da câmara de biossegurança – conforme apropriado – como parte da descrição das medidas para evitar a disseminação no ambiente mencionado na Secção 3.6 (d) e (e).*

*Também é pedido ao requerente que forneça uma visão geral (tabela) das salas envolvidas na atividade do ensaio clínico, indicando para cada uma delas o número da sala, o tipo de manuseamento realizado (por exemplo, armazenamento, administração do ME, reconstituição do ME) e o nível de contenção.*

#### **Submissões na França:**

*O plano do local deve indicar claramente a localização de um PSMII, ou um dispositivo equivalente.*

#### **Submissões na Alemanha:**

- *O requerente não é obrigado a fornecer mais informações na Secção 3(6)(c) se confirmar que o procedimento de desinfecção e descontaminação está incluído na lista de desinfetantes e procedimentos de desinfecção atualmente aprovados do Instituto Robert Koch Institute ou na lista de desinfetantes VAH (Verbund für Angewandte Hygiene e.V).*
- *O requerente deve explicar se as sobras de produto são armazenados no centro clínico e, em caso afirmativo, durante quanto tempo, como parte da informação apresentada na Secção 3(6)(d).*

- *O requerente deve fornecer as seguintes informações sobre o tratamento de resíduos na secção 3(6)(e):*
- *Se e durante quanto tempo os resíduos serão armazenados (ou frequência de eliminação de resíduos),*
- *Local de armazenamento,*
- *Logística para transporte dos resíduos no centro (semelhante ao solicitado pelo vetor clínico na Secção 3.4), e*
- *Em caso de descontaminação química, se o desinfetante escolhido e o método são suficientemente ativos contra o vetor clínico (semelhante à Secção 3.6.c)*
- *Se as amostras forem armazenadas no centro clínico, a duração máxima de armazenamento deve ser indicada na Secção 3.7 (c).*
- *Os requerentes têm de fornecer planos de resposta de emergência.*

**Submissões na Itália:**

- *Além do plano do centro, deve ser fornecida uma descrição da localização da autoclave – conforme apropriado – como parte da descrição das medidas para evitar a disseminação no ambiente mencionado na Secção 3.6 (d) e (e).*
- *Se o fabricante do vetor clínico estiver localizado na Itália, a autorização emitida para as instalações deve ser declarada na Secção 1.3.*

## SECÇÃO 5- AVALIAÇÃO DE RISCO AMBIENTAL

### Avaliação específica de risco ambiental

Considerando as características específicas do medicamento experimental (conforme descrito na Secção 2 do formulário de pedido), o requerente considera que a avaliação de risco ambiental específica prevista na Secção 2 das Boas Práticas sobre a avaliação de aspetos relacionados com OGM no contexto de ensaios clínicos com vetores clínicos AAV é aplicável:

Sim   
Não

Se a resposta acima for NÃO, devem ser fornecidas as seguintes informações:

- *Para os pedidos apresentados ao abrigo da Diretiva 2001/18/CE: é necessária uma avaliação de risco ambiental, em conformidade com o Anexo II do respetivo documento.*
- *Para os pedidos apresentados ao abrigo da Diretiva 2009/41/CE: uma avaliação dos riscos para a saúde humana e para o ambiente, em conformidade com o artigo 4.º do respetivo documento.*