

Intrexon T1D Partners, LLC.  
20374 Seneca Meadows Parkway  
Germantown, MD 20876

## Notification de dissémination volontaire d'OGM

### INFORMATIONS DESTINÉES AU PUBLIC<sup>1</sup>

#### ÉTUDE MULTICENTRIQUE ET PROSPECTIVE DE PHASE 1B/2A ÉVALUANT LA SÉCURITÉ ET LA TOLÉRABILITÉ DE DIFFÉRENTES DOSES D'AG019 ADMINISTRÉES SEULES OU EN ASSOCIATION AVEC DU TEPLIZUMAB CHEZ DES SUJETS PRÉSENTANT UN DIABÈTE DE TYPE 1 (DT1) RECEMMENT DIAGNOSTIQUE.

Numéro européen de notification  
B/BE/18/BVW5

Édition n° : 01.1

Date rapport / publication : 2018-06-08

Remplace la précédente édition n° : 01  
(Date) :

Document N° : AG019-GMO-BE-IP-FR-20180608

Préparé par : Sven Blomme  
Responsable projet clinique  
Intrexon Actobiotics N.V., d/b/a ActoBio  
Therapeutics

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

## TABLE DES MATIÈRES :

|   |   |
|---|---|
| 1. CADRE RÉGLEMENTAIRE ET PROCÉDURE D'AUTORISATION .....                                | 3 |
| 2. DESCRIPTION DU MICRO-ORGANISME GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ (MGM) :.....                    | 3 |
| 3. TYPE ET OBJECTIF DE L'ESSAI ENVISAGÉ :.....  | 4 |
| 4. CADRE DE RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT :.....   | 5 |
| 5. BÉNÉFICES POTENTIELS DE LA LIBÉRATION PLANIFIÉE :.....                               | 6 |
| 6. ÉVALUATION DES RISQUES POTENTIELS POUR LA SANTÉ HUMAINE ET<br>L'ENVIRONNEMENT :..... | 6 |
| 7. CONFINEMENT ET CONTRÔLE .....  | 7 |
| 8. RESPONSABILITÉS DU NOTIFIANT ;.....  | 8 |
| 9. INSPECTION PAR LES AUTORITÉS PUBLIQUES :.....  | 8 |
| 10. RAPPORT D'ACTIVITÉ : .....  | 8 |
| 11. CONTACT :.....  | 9 |

## 1. CADRE RÉGLEMENTAIRE ET PROCÉDURE D'AUTORISATION

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

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

Afin d'obtenir l'autorisation nécessaire du ministre compétent, la société Intrexon T1D Partners, LLC. a introduit un dossier de demande d'autorisation auprès de l'autorité compétente. Sur la base de l'avis du Conseil de Biosécurité, le ministre compétent pourrait autoriser la société Intrexon T1D Partners, LLC. à effectuer des expériences sur le *Lactococcus lactis* transgénique AG019, comme décrites dans la demande **B/BE/18/BVW5**.

La dissémination est prévue en Flandre et à Bruxelles en conséquence d'un essai clinique mené à l'UZ Gasthuisberg (Louvain), à l'UZ Antwerpen (Edegem) et à l'UZ Brussel (Jette). L'essai devrait débuter le 01 Aout 2018 et se terminer le 31 Aout 2019.

## 2. DESCRIPTION DU MICRO-ORGANISME GÉNÉTIQUEMENT MODIFIÉ (MGM) :

La souche MG1363 de la bactérie *Lactococcus lactis* a été génétiquement modifiée pour produire les protéines thérapeutiques interleukine-10 humaine (hIL-10) et pro-insuline humaine (hPINS). Ces protéines seraient susceptibles de mettre un terme à la destruction auto-immune des cellules pancréatiques de patients chez lesquels un diabète de type 1 (DT1) a été récemment diagnostiqué. Le produit médicament basé sur ce MGM a pour code AG019.

*L. lactis* est l'un des principaux micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière. Il est essentiel à la fabrication de produits comme le lait battu, le yaourt et le fromage. À l'origine, *L. lactis* était isolée du lait cru qui est l'un des rares environnements dans lequel elle peut survivre. *L. lactis* peut être détectée chez l'homme et chez l'animal, dans le sol, dans les eaux effluentes et les plantes, mais ces environnements ne favorisent pas sa croissance. *L. lactis* n'entraîne aucune maladie (non pathogène) et ne produit pas de structures de survie telles que des spores. La présence des gènes *il-10* et *pins* n'y change rien.

La souche MG1363 de *L. lactis* est incapable de proliférer dans le lait ou dans tout autre environnement naturel. En effet, les gènes codant pour les enzymes nécessaires à l'utilisation par la bactérie des nutriments essentiels du lait, ont été délétés. Par conséquent, MG1363 peut uniquement se développer dans des conditions de culture supplémentées artificiellement.

La croissance de la souche MG1363 génétiquement modifiée et exprimant hIL-10 et hPINS est encore plus restreinte : un gène nécessaire à la production de thymidine (un composant de l'ADN) a été délété du génome de la bactérie. La culture *in vitro* de la souche recombinante est dès lors dépendante de l'addition de thymidine dans le milieu de culture. En absence de thymidine, la bactérie ne peut survivre.

La construction génétique introduite dans le génome d'AG019 contient également un signal permettant l'excrétion des protéines hIL-10 et hPINS en dehors de la bactérie. La bactérie produira et excrétera les protéines IL-10 et PINS humaines dans les intestins, au bénéfice du patient.

Les bactéries *L. lactis* sont extrêmement sensibles aux environnements acides tels que l'estomac et le duodénum (partie de l'intestin grêle située juste après l'estomac). Afin de garantir la survie suffisamment longue des bactéries, nécessaire à la production par celle-ci des protéines IL-10 et PINS humaines, les bactéries ont été génétiquement modifiées pour résister à cet environnement acide.

En quelques jours, les bactéries sont libérées via les selles. Seul un nombre limité de bactéries survivent au passage à travers l'organisme et celles qui y parviennent meurent peu après.

### **3. TYPE ET OBJECTIF DE L'ESSAI ENVISAGÉ :**

Un essai clinique, composé de 2 phases, est prévu :

- La première partie de l'essai consistera à étudier la sécurité et la tolérabilité de différentes doses de bactéries *L. lactis* génétiquement modifiées AG019 chez des patients chez lesquels un diabète de type 1 (DT1) a été récemment diagnostiqué.
- La seconde partie de l'essai consistera à étudier la sécurité et la tolérabilité de différentes doses de bactéries *L. lactis* génétiquement modifiées AG019, combinées à l'administration d'un autre médicament en développement appelé teplizumab, chez des patients chez lesquels un DT1 a été récemment diagnostiqué.

AG019 est le code du médicament en développement contenant la bactérie génétiquement modifiée. Les bactéries AG019 sont formulées sous forme de gélules gastrorésistantes en vue d'une prise orale. Deux doses différentes d'AG019 seront étudiées pendant la première partie de l'étude : 2 gélules par jour et 6 gélules par jour.

Pendant la première partie de l'étude, les patients prendront 2 ou 6 gélules chaque jour pendant 8 semaines. Lors de la seconde phase, les patients prendront 6 gélules chaque jour pendant 8 semaines (pour autant que le profil de sécurité du régime de 6 gélules par jour ait été confirmé durant la première partie). En outre, durant les 12 premiers jours de cette période de 8 semaines, les patients recevront des perfusions quotidiennes de teplizumab. Lors de la seconde phase, les patients recevront les médicaments (AG019 + teplizumab) ou un placebo. Un placebo est une formule pharmaceutique sans ingrédient actif et sans effet thérapeutique.

Les deux phases de l'essai ont pour objectif d'évaluer la sécurité, la tolérabilité et l'activité potentielle d'AG019, seul ou combiné au teplizumab. Lors de chaque phase, 24 patients seront recrutés. Cela signifie que l'essai clinique comptera 48 participants au total. Parmi ces 48 patients, seuls 10 seront recrutés en Belgique.

Les patients seront sélectionnés selon des critères particulièrement rigoureux. C'est la raison pour laquelle une approche multicentrique est nécessaire. Il s'agit d'une étude en ambulatoire, c'est-à-dire que les patients ne résident pas dans le centre d'essai clinique (CEC) durant l'essai. A l'hôpital, les patients reçoivent le médicament et tout le matériel nécessaire pour une période déterminée de traitement définie

par le protocole de l'étude, y compris les consignes d'utilisation. Régulièrement, le patient se rendra au CEC pour une visite de contrôle.

Les expériences menées en laboratoire et sur des animaux ont montré que ce médicament était sans danger et que la bactérie génétiquement modifiée contenue dans celui-ci ne survivait pas en dehors du corps humain.

#### **4. CADRE DE RECHERCHE ET DÉVELOPPEMENT :**

Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune dans laquelle les cellules bêta du pancréas – les cellules de l'organisme qui produisent l'insuline – sont détruites par le propre système immunitaire du patient. Bien que les patients souffrant du diabète de type 1 soient traités avec de l'insuline, il peut toujours être difficile de préserver un bon équilibre glycémique, au risque d'entraîner de graves complications aiguës comme une perte de conscience due à une glycémie trop faible (choc insulinaire) ou une acidose (coma diabétique). À long terme, un équilibre glycémique insatisfaisant peut engendrer de graves lésions rénales, oculaires, nerveuses et cardiaques. Par conséquent, la mise au point d'un traitement permettant de soigner le diabète de type 1 ou d'interrompre la dégradation des cellules bêta serait très utile.

Il n'existe à ce jour aucun traitement médical ou chirurgical pour le DT1. Les patients souffrant de DT1 ont besoin durant toute leur vie d'injections d'insuline afin de maintenir leur équilibre glycémique. À travers le monde, de nombreux chercheurs et sociétés tentent de trouver un traitement curatif pour la maladie.

L'administration d'IL-10 et de PINS humaines pourrait constituer un traitement éventuel. La principale fonction biologique de l'IL-10 consiste à limiter et à mettre fin aux réactions inflammatoires, ainsi qu'à réguler le développement de plusieurs types de cellules immunitaires. Il a été évoqué que l'IL-10 jouait un rôle clé dans la modulation de la réponse immunitaire. L'IL-10 humaine recombinante a été produite et testée lors d'essais cliniques pour différentes indications, notamment pour la polyarthrite rhumatoïde, la maladie inflammatoire chronique de l'intestin, le psoriasis, la transplantation d'organe et l'hépatite C chronique. En combinant l'IL-10 et la PINS humaines, le traitement ciblera uniquement les cellules responsables de la destruction des cellules bêta pancréatiques, tandis que le reste du système immunitaire ne sera pas affecté.

Des injections de doses élevées d'IL-10 humaine entraînent des effets indésirables, lesquels sont documentés. Ces effets incluent généralement une diminution du nombre de globules rouges (anémie), une diminution du nombre de plaquettes sanguines (thrombocytopénie), des maux de tête et/ou de la fièvre.

Intrexon T1D Partners, LLC. développe une technologie d'administration de molécules thérapeutiques appelée ActoBiotics® qui repose sur une souche de *L. lactis* vivante et non pathogène pour l'administration locale d'un médicament dans l'intestin. La technologie ActoBiotics® réduit la nécessité de doses élevées grâce à l'administration localisée dans le tractus gastro-intestinal. Les micro-organismes traversent l'intestin en quelques jours après l'administration orale. Les études décrites ici utilisent une souche modifiée de *L. lactis* sécrétant les protéines recombinantes hIL-10 et hPINS.

En outre, la bactérie AG019 contient le gène de l'IL-10 humaine, inséré de manière stable dans le chromosome où il remplace un gène nécessaire à la production de thymidine (un composant de l'ADN).

Dès lors, la culture *in vitro* de la souche recombinante est dépendante de l'addition de thymidine dans le milieu.

La bactérie contient également le gène de la PINS humaine, inséré de manière stable dans le chromosome.

Enfin, les bactéries ont été modifiées pour leur permettre de survivre à leur passage à travers l'estomac et les intestins, afin qu'elles puissent vivre suffisamment longtemps pour produire et fournir les protéines.

Des modèles murins du DT1 ont permis de démontrer que la dose thérapeutique d'IL-10 et de PINS peut être réduite grâce à leur sécrétion localisée par une bactérie génétiquement modifiée à cet effet. La sécrétion d'IL-10 et de PINS humaines dans l'intestin par *L. lactis* a entraîné une diminution significative du DT1 chez les souris. La diminution était d'autant plus importante lorsque le traitement à base de *L. lactis* était associé à un médicament immunosuppresseur tel que le teplizumab.

L'étude clinique planifiée sera la première étude au cours de laquelle ce traitement sera testé chez des patients humains.

Sur la base de sa technologie ActoBiotics® d'administration locale de médicaments dans l'intestin, Intrexon T1D Partners, LLC. développe une nouvelle catégorie de substances biopharmaceutiques à l'efficacité améliorée et présentant un profil d'effets secondaires réduit. La technologie ActoBiotics® peut être utilisée afin de développer des traitements pour un large éventail de maladies graves. Au cours des dernières années, l'équipe de recherche d'Intrexon T1D Partners, LLC. a déjà obtenu une preuve de concept avec des produits médicaments basés sur la technologie ActoBiotics®. Des données positives d'efficacité ont été générées dans des modèles animaux de maladie inflammatoire chronique de l'intestin, de mucosité intestinale et orale, de DT1 et d'allergie alimentaire.

## **5. BÉNÉFICES POTENTIELS DE LA LIBÉRATION PLANIFIÉE :**

La libération planifiée s'inscrit dans le contexte d'une étude clinique, laquelle est la prochaine étape dans le développement d'une nouvelle stratégie pour arrêter la progression du DT1. Actuellement, il n'existe aucun traitement curatif pour le DT1.

## **6. ÉVALUATION DES RISQUES POTENTIELS POUR LA SANTÉ HUMAINE ET L'ENVIRONNEMENT :**

*L. lactis* est généralement présente et ajoutée aux produits alimentaires. *L. lactis* est l'un des principaux micro-organismes utilisés dans l'industrie laitière. La majorité de ces bactéries produites industriellement ne survivent pas en dehors de l'environnement laitier. La bactérie n'est pas classée comme un organisme dangereux. Elle ne produit aucune structure de survie comme des spores.

*L. lactis* est présente dans de nombreux environnements, aucun de ceux-ci n'étant par contre identifiés comme niches écologiques. Malgré son utilisation largement répandue et sa libération massive dans l'environnement, elle n'a pas été identifiée comme invasive ou perturbatrice. Sa multiplication peut uniquement être maintenue dans un certain nombre d'environnements favorables, car contenant les nutriments essentiels à sa prolifération, comme le lait. *L. lactis* ne se multiplie pas et ne colonise pas les humains ou les animaux.

La souche MG1363 de *L. lactis* croît uniquement dans des conditions de culture supplémentées artificiellement étant donné que les gènes permettant d'utiliser les nutriments indispensables du lait ont été éliminés. MG1363 ne produit pas d'antibiotiques, mais est sensible à un grand nombre d'entre eux.

De plus, la souche modifiée sécrétant les protéines IL-10 et PINS humaines (AG019) a également perdu la capacité de produire de la thymidine, nécessaire à sa survie. Il est très peu probable que ce micro-organisme génétiquement modifié réacquière la capacité de produire de la thymidine. De même, AG019 n'est pas en mesure de transférer les modifications génétiques acquises à d'autres micro-organismes. Aucune interaction spécifique avec des organismes non cibles n'a été identifiée. AG019 sera libérée dans des compartiments naturels pour *L. lactis*, principalement le tractus gastro-intestinal humain et le réseau des égouts.

Il ne peut être exclu que des biotopes précieux, des zones protégées ou des sources d'approvisionnement en eau potable soient exposés à AG019. Toutefois, à l'heure actuelle, une exposition de ces environnements à *L. lactis* survient déjà. La souche modifiée ne possède aucune propriété qui rendrait cette exposition plus probable. Inversement, étant donné que sa survie dépend totalement de la présence de thymidine, toute exposition sera d'autant plus limitée dans le temps. Alors qu'on peut conclure que l'environnement de libération d'AG019 est similaire à celui dans lequel on rencontre normalement *L. lactis*, les modifications caractérisant cet OGM impliquent que cette souche n'est plus en mesure de survivre dans cet habitat.

La protéine IL-10 humaine n'a d'effets biologiques que sur les cellules humaines qui disposent des récepteurs appropriés. Ces récepteurs sont extrêmement spécifiques à l'espèce humaine. La plupart des récepteurs spécifiques à l'IL-10 exprimés chez les animaux mammifères présentent une réactivité croisée faible, voire inexistante avec l'IL-10 humaine, à l'exception de certains récepteurs simiens et murins. La PINS humaine a une activité biologique très faible. De plus, aucun effet spécifique autre que celui prévu sur le système immunitaire n'est attendu chez l'être humain.

Les gènes codant pour les protéines humaines IL-10 et PINS sécrétées par l'OGM sont uniques, il s'agit de gènes de synthèse qui peuvent être différenciés des gènes codant pour l'IL-10 et la PINS humaine native. Ils peuvent être détectés via une technique appelée réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

La présente notification concerne une dissémination volontaire d'OGM à des fins expérimentales. Par conséquent et en règle générale, l'utilisation de ce matériel à d'autres fins est interdite.

## **7. CONFINEMENT ET CONTRÔLE**

Pour le présent essai clinique, le produit médicamenteux (contenant la bactérie) est préparé sous forme de poudre puis formulé dans des gélules, emballées sous blisters. Si l'emballage est endommagé, la poudre se dégrade rapidement après contact avec de l'humidité et de la chaleur. Le micro-organisme est sensible aux températures supérieures à 40 °C, à l'acidité, à un air sec, à la lumière directe du soleil, aux UV, au savon, aux agents blanchissants, aux antibiotiques et aux solutions hautement concentrées en sel. En cas de renversement, la quantité serait limitée. La zone concernée pourra être décontaminée à l'aide d'un détergent standard (savon) ou d'eau de javel.

Au moment de la prise d'AG019, il n'y a aucun contact avec la bactérie. Le patient reçoit uniquement le matériel nécessaire pour une période déterminée de traitement (maximum 28 jours). Au même moment, des instructions sont fournies et expliquées afin de garantir la compliance au traitement.

Dans le cadre d'une étude clinique ambulatoire, la prise du produit médicament étudié s'effectue en dehors de l'hôpital (soit généralement à la maison). Une fois administrée, la bactérie suivra le flux fécal. L'administration et l'excrétion (via les selles) ne sont pas nécessairement limitées au domicile du patient. Par conséquent, le territoire national est considéré comme la zone de libération potentielle la plus large. On peut s'attendre à ce que la dissémination de la bactérie vivante s'interrompe peu de jours après le traitement. Aucun traitement spécifique de l'environnement où a lieu la dissémination n'est prévu, comme justifié par le confinement biologique et l'absence d'impact pertinent sur l'environnement de la bactérie AG019. De même, le public au sens large n'a généralement pas accès au système d'égout. Si nécessaire, un traitement antibiotique standard suffirait à éliminer les bactéries.

À intervalles réguliers, les patients se rendront à l'hôpital, non seulement pour y être examinés, mais aussi pour rapporter les emballages des médicaments (vides ou non utilisés) et en recevoir de nouveaux. Au centre d'essai clinique, des précautions standard sont mises en place. Des conditions d'hygiène normales pour l'équipe clinique en contact avec les fluides corporels du patient (en particulier les selles) devraient suffire. Des gants et des lingettes, tous deux jetables, doivent être utilisés lors de la manipulation d'appareils destinés aux analyses et aux biopsies. Tout matériel jeté doit être manipulé comme un déchet médical dangereux.

De manière évidente, le patient sera exposé directement à la bactérie. D'autres membres de sa famille peuvent être exposés à la bactérie soit directement soit par contact avec du matériel avec lequel la bactérie est rentrée en contact. Des pratiques d'hygiène standard devraient suffire pour limiter ou prévenir une exposition significative.

## **8. RESPONSABILITÉS DU NOTIFIANT :**

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

## **9. INSPECTION PAR LES AUTORITÉS PUBLIQUES :**

*Des inspecteurs sont chargés de contrôler les essais afin de s'assurer du respect des conditions spécifiées dans le consentement, et d'examiner les éventuelles violations de consentement. Dans le cas où une infraction ou une fraude est constatée, des sanctions spécifiques seront imposées.*

## **10. RAPPORT D'ACTIVITÉ :**

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

- *le lieu et la période de dissémination,*
- *la nature précise des OGM effectivement disséminés,*
- *l'objectif ou les objectifs des expérimentations,*
- *les mesures ayant été prises pour éviter la dissémination involontaire du matériel transgénique,*



- *le cas échéant, les mesures ayant été prises pour la protection du sujet (patient/animal) pendant l'administration du produit médical expérimental contenant l'OGM,*
- *le cas échéant, les mesures ayant été prises pour la protection des parents des patients traités,*
- *les mesures ayant été prises pour la protection des travailleurs qui ont dû manipuler le matériel contenant l'OGM,*
- *la méthode utilisée pour la destruction du matériel non utilisé ou contaminé,*
- *les résultats obtenus lors des essais,*
- *un résumé de la surveillance de la dissémination du produit OGM hors du patient/animal,*
- *un résumé de la surveillance de l'OGM ou ADN recombinant dans l'environnement.*

## **11. CONTACT :**

*Si vous avez des commentaires sur cette fiche d'informations destinées au public ou sur nos activités ou si vous souhaitez obtenir des renseignements complémentaires relatifs à cet essai, n'hésitez pas à nous contacter à l'adresse suivante :*

### **Notifiant :**

Nom de la société : Intrexon T1D Partners, LLC.

Adresse : 20374 Seneca Meadows Parkway, Germantown, Maryland, États-Unis d'Amérique

Téléphone : +1 214 526 1465

E-mail : [tbarton@wrctx.com](mailto:tbarton@wrctx.com)

### **Personne de contact :**

Nom de la personne de contact : Sven Blomme

Adresse : Industriepark Zwijsnaarde 7C Building D, 9052 Zwijsnaarde, Belgique

Téléphone : +32 (0)9 277 11 77

E-mail : [sblomme@actobio.com](mailto:sblomme@actobio.com)

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