

NOTICE I

Principes de classement des opérations mettant en œuvre des vecteurs dérivés des adénovirus

La construction de vecteurs adénoviraux porteurs d'inserts implique plusieurs étapes au cours desquelles l'OGM (le vecteur) prend des formes différentes du fait de son association avec différents systèmes hôtes (bactérie, cellules d'emballage, particule virale nue). On distinguera donc différents classements en fonction de ces différentes formes.

| Forme de l'OGM (détermine le risque) | Insert porté par le vecteur adénoviral (détermine le danger) | |
|---|---|---|
| | Catégorie A insert sans danger potentiel | Catégorie B insert présentant un danger potentiel |
| A0/BO | | |
| ADN adénoviral déficient pour la réplication, sans insert, recombinaison avec inserts, nu ou propagé dans E. coli | C1, GI, L1 | C1, GI, L1 ou L2 (évalué au cas par cas) |
| Cellules transcomplémentantes ayant reçu le vecteur recombinaison avec les séquences, et, suspension virale obtenue du vecteur adénoviral déficient recombinaison avec les séquences indiquées | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |
| ----- | | |
| A/B | | |
| <ul style="list-style-type: none">• <u>Suspension virale répondant à l'ensemble des critères suivants:</u><ul style="list-style-type: none">1°) contenant moins de 10^{12} particules physiques d'adénovirus,2°) contenant moins de 10^{10} PFUs,3°) dans laquelle le titre infectieux sur cellules transcomplémentantes est au minimum 10^6 fois supérieur au titre infectieux sur cellules non-transcomplémentantes*, | | |
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L1 | C3, GII, L2 |
| Culture cellulaire, non susceptible de produire le recombinaison, traitée avec la suspension | C2, GII, L1 | C3, GII, L2 |
| Animal traité avec cette suspension virale | C2, GII, A1 | C3, GII, A2 ⁽¹⁾ |
| Thérapie génique humaine : utilisation d'une suspension virale de recombinaison répondant aux spécifications de l'Agence du Médicament | C2, GII, TL1 ⁽²⁾ | C3, GII, TL2 ⁽²⁾ |
| ----- | | |

AA/BB

- **Suspension virale ne répondant pas à, au moins, un des critères suivants:**

1°) contenant moins de 10^{12} particules physiques d'adénovirus,

2°) contenant moins de 10^{10} PFUs,

3°) dans laquelle le titre infectieux sur cellules transcomplémentantes est au minimum 10^6 fois supérieur au titre infectieux sur cellules non-transcomplémentantes*,

| | | |
|--|-----------------------------|----------------------------|
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |
| Culture cellulaire traitée avec la suspension virale | C2, GII, L2 ⁽³⁾ | C3, GII, L3 ⁽⁴⁾ |
| Animal traité avec cette suspension virale | C2, GII, A2 ⁽¹⁾ | C3, GII, A3 ⁽¹⁾ |
| Thérapie génique avec cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée | C2, GII, TL2 ⁽²⁾ | |

* la détermination du titre infectieux est réalisée selon une méthode validée

⁽¹⁾ Puis animalerie A1 huit jours après démonstration, par une procédure de recherche validée, de l'absence de recombinant dans les fluides biologiques de l'animal .

Le sacrifice des animaux et l'examen des pièces d'anatomopathologie doivent être effectués en confinement L2, même s'il y a eu passage de l'animalerie de type A2 en A1, ou, de l'animalerie A3 en A1.

L'examen des pièces fixées peut être effectué en confinement L1.

⁽²⁾ Après test montrant l'absence de production de recombinant, les patients ne sont plus soumis à confinement.

⁽³⁾ Puis confinement L1, lorsqu'après traitement, l'absence de recombinant dans les surnageants de culture est démontrée par une méthode validée.

⁽⁴⁾ Puis confinement L2, lorsqu'après traitement, l'absence de recombinant dans les surnageants de culture est démontrée par une procédure de recherche validée.

NOTICE II

Principes de classement des opérations mettant en œuvre des vecteurs dérivés des rétrovirus

La construction de rétrovirus vecteurs porteurs d'inserts implique plusieurs étapes au cours desquelles l'OGM (le vecteur) prend des formes différentes du fait de son association avec différents systèmes hôtes (bactérie, cellules d'emballage, particule virale nue). On distinguera donc différents classements en fonction de ces différentes formes.

Insert porté par le vecteur rétroviral (détermine le danger)

| Forme de l'OGM (détermine le risque) | Catégorie A insert sans danger potentiel | Catégorie B insert présentant un danger potentiel |
|---|--|---|
| EA0/EBO | | |
| <u>Bactéries</u> hébergeant le plasmide porteur du vecteur rétroviral recombiné | C1, GI, L1 | C2, GII, L1 |
| <hr/> | | |
| EA1/EB1 | | |
| <u>Cellules</u> d'emballage écotropes préalablement contrôlées comme non contaminées par un rétrovirus répliatif | C1, GI, L1 | C2, GII, L2 ⁽¹⁾ |
| Suspension virale écotrope dépourvue de rétrovirus répliatif et cellules exposées à cette suspension | C1, GI, L1 | C2, GII, L1 |
| <hr/> | | |
| AA1/AB1 | | |
| <u>Cellules</u> d'emballage amphotropes préalablement contrôlées comme non contaminées par un rétrovirus répliatif | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |
| Suspension virale amphotrope dépourvue de rétrovirus répliatif et cellules exposées à cette suspension | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 ⁽²⁾ |
| <hr/> | | |

EA2/EB2

| | | |
|--|------------|-------------|
| <u>Animal</u> traité avec la suspension virale écotrope dépourvue de virus répliatif | C1, GI, A1 | C2, GII, A1 |
| Animal greffé avec des cellules traitées ex-vivo avec la suspension précédente, | C1, GI, A1 | C2, GII, A1 |
| Animal greffé avec des cellules d'empaquetage écotrope, contrôlée comme non contaminée par un rétrovirus répliatif | C1, GI, A1 | C2, GII, A2 |

AA2/AB2

| | | |
|--|-------------|---------------------|
| <u>Animal</u> traité avec la suspension virale amphotrope dépourvue de virus répliatif | C2, GII, A1 | C3, GII, A3 puis A2 |
| Animal greffé avec des cellules traitées ex-vivo avec la suspension précédente | C2, GII, A1 | C2, GII, A2 |
| Animal greffé avec des cellules d'empaquetage amphotrope, contrôlée comme non contaminée par un rétrovirus répliatif * | C2, GII, A2 | C2, GII, A3 puis A2 |

AA3/AB3

| | | |
|---|--------------|--------------|
| <u>Thérapie génique</u> : injection in vivo de vecteur ou de cellules d'empaquetage produisant un vecteur amphotrope dépourvu de virus répliatif ^{(3) (4)} | C2, GII, TL1 | C3, GII, TL2 |
| <u>Thérapie génique</u> : transplantation de cellules ayant été mises en contact avec un vecteur amphotrope dépourvu de virus répliatif ^{(3) (4)} | C2, GII, TL1 | C3, GII, TL2 |

* tant que le test n'a pas été effectué, l'animal doit être considéré comme producteur présomptif même si la suspension virale utilisée pour l'infection était exempte de virus répliatif. Le test peut se faire selon une procédure préliminaire pilote validée pour chaque type de vecteur recombinant valable pour l'ensemble des lots homogènes de ce vecteur et pour des lots homogènes d'animaux.

⁽¹⁾ Puis confinement L1, après test montrant l'absence de production de rétrovirus répliatif.

⁽²⁾ Pour la transduction des cellules puis L2 après test montrant l'absence de production de rétrovirus répliatif

⁽³⁾ Les préparations doivent répondre aux spécifications exigées par l'Agence du médicament.

⁽⁴⁾ Après test montrant l'absence de production de rétrovirus répliatif, les patients ne sont plus soumis à confinement.

NOTICE III

Principes de classement des opérations mettant en œuvre des vecteurs dérivés des virus adéno-associés (AAV) de sérotypes 1,2,3,4,5 et 6.

La construction de vecteurs AAV porteurs d'inserts implique plusieurs étapes au cours desquelles l'OGM (le vecteur) prend des formes différentes du fait de son association avec différents systèmes hôtes (bactérie, cellules d'emballage, particule virale nue). On distinguera donc différents classements en fonction de ces différentes formes.

Insert porté par le vecteur AAV (détermine le danger)

| Forme de l'OGM (détermine le risque) | Catégorie A insert sans danger potentiel | Catégorie B insert présentant un danger potentiel ⁽¹⁾ |
|--|---|---|
| A0/B0 | | |
| <u>Plasmide</u> portant le vecteur AAV recombiné avec la séquence indiquée, nu ou propagé dans E. coli | C1, GI, L1 | C1, GI, L1 |
| <u>Plasmide portant des séquences</u> codant pour des protéines Rep ou Cap en dehors du contexte d'un génome viral | C1, GI, L1 | C1, GI, L1 |
| <u>Cellules</u> dans lesquelles les plasmides ci-dessus ainsi qu'un virus auxiliaire ou un plasmide auxiliaire ont été introduits simultanément ⁽²⁾ | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |

A/B

- Suspension virale répondant à l'ensemble des critères suivants:

1°) contenant moins de 10^{12} génomes vecteurs estimés par dot blot ou PCR quantitative,
2°) dans laquelle il n'y a pas de particules répliquatives de virus auxiliaire détectables sur cellules transcomplémentantes ⁽³⁾,

| | | |
|--|--------------|--------------|
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L1 | C2, GII, L2 |
| <u>Culture cellulaire</u> traitée par cette suspension ⁽⁴⁾ | C2, GII, L1 | C2, GII, L2 |
| <u>Animal</u> recevant cette suspension ou des cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁵⁾ | C2, GII, A1 | C2, GII, A2 |
| <u>Thérapie génique</u> comprenant l'injection de cette suspension ou de cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁶⁾ | C2, GII, TL1 | C2, GII, TL2 |

AA/BB

- Suspension virale ne répondant pas à, au moins, un des critères mentionnés ci-dessus :

| | | |
|--|--------------|-------------|
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |
| <u>Culture cellulaire</u> traitée par cette suspension ⁽⁴⁾ | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |
| <u>Animal</u> recevant cette suspension ou des cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁵⁾ | C2, GII, A2 | C2, GII, A3 |
| <u>Thérapie génique</u> comprenant l'injection de cette suspension ou de cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁶⁾ | C2, GII, TL2 | |

⁽¹⁾ certaines séquences dangereuses, comme celles codant des toxines, font l'objet d'un classement particulier.

⁽²⁾ Le virus auxiliaire peut être un adénovirus, un virus de l'Herpès, un Cytomégalovirus, un Papillomavirus ou le virus de la Vaccine.

⁽³⁾ La méthode utilisée consiste à exposer des cellules autorisant la réplication du virus auxiliaire avec la préparation de vecteur AAV puis à rechercher la production de particules de virus auxiliaire par un test validé

⁽⁴⁾ Les cellules en lignées continues sont manipulées selon leur classement par l'ATCC. Les cellules primaires de primates sont manipulées en L2. Les cellules doivent être indemnes de contamination par un virus auxiliaire et par de l'AAV sauvage.

⁽⁵⁾ Les confinements A3 et A2 deviennent ensuite respectivement A2 et A1.

⁽⁶⁾ Les suspensions virales utilisées pour la thérapie génique doivent en outre répondre aux critères de qualité requis par l'Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Après démonstration de recombinant dans les liquides biologiques, les patients ne sont plus soumis à confinement.

NOTICE IV

Principes de classement des opérations mettant en œuvre des vecteurs dérivés de lentivirus

La construction de vecteurs lentiviraux porteurs d'inserts implique plusieurs étapes au cours desquelles l'OGM (le vecteur) prend des formes différentes du fait de son association avec différents systèmes hôtes (bactérie, cellules d'emballage, particule virale nue). On distinguera donc différents classements en fonction de ces différentes formes comme cela est décrit dans la note sur l'utilisation et la production de vecteurs lentiviraux

Insert porté par le vecteur lentiviral (détermine le danger)

| Forme de l'OGM (détermine le risque) | Catégorie A insert sans danger potentiel | Catégorie B insert présentant un danger potentiel ⁽¹⁾ |
|---|--|--|
| AO/BO | | |
| <u>Plasmide</u> portant le vecteur lentiviral ΔU3 (SIN) avec la séquence indiquée, nu ou propagé dans E. coli | C1, GI, L1 | C1, GI, L1 |
| <u>Plasmide</u> portant des séquences codant des protéines lentivirales en dehors du contexte d'un génome viral | C1, GI, L1 | C1, GI, L1 |
| <u>Cellules</u> dans lesquelles les plasmides ci-dessus ont été introduits simultanément | C2, GII, L2 | C3, GII, L3 |

A/B

- Suspension virale répondant à l'ensemble des critères suivants:
 - 1°) Vecteur SIN produit par transcomplémentation à l'aide de séquences dépourvues des gènes régulateurs : Vpr, Vpu, Vif et Nef,
 - 2°) Pour les inserts de type A : production de volumes inférieurs à 200ml,

| | | |
|--|--------------|---------------------|
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L2 | C2, GII, L3 |
| <u>Culture cellulaire</u> traitée par cette suspension ⁽²⁾ | C2, GII, L2 | C2, GII, L3 puis L2 |
| <u>Animal</u> recevant cette suspension ou des cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽³⁾ | C2, GII, A1 | C2, GII, A2 puis A1 |
| <u>Thérapie génique</u> comprenant l'injection de cette suspension ou de cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁴⁾ | C2, GII, TL1 | C2, GII, TL2 |

AA/BB

- Suspension virale ne répondant à, au moins, un des critères mentionnés ci-dessus :

| | | |
|--|---------------------|---------------------|
| Manipulation de cette suspension virale | C2, GII, L3 | C3, GII, L3 |
| <u>Culture cellulaire</u> traitée par cette suspension ⁽²⁾ | C2, GII, L3 puis L2 | C3, GII, L3 puis L2 |
| <u>Animal</u> recevant cette suspension ou des cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽³⁾ | C2, GII, A2 puis A1 | C2, GII, A3 puis A2 |
| <u>Thérapie génique</u> comprenant l'injection de cette suspension ou de cellules exposées à cette suspension jusqu'à ce que l'absence de vecteur recombinant dans les liquides biologiques ait été démontrée ⁽⁴⁾ | C2, GII, TL2 | |

⁽¹⁾ Certaines séquences dangereuses comme celles codant pour des toxines font l'objet d'un classement particulier.

⁽²⁾ Les cellules en lignées continues sont manipulées selon leur classement par l'ATCC. Les cellules primaires de primate sont manipulées en L2. Les cellules sont indemnes de contamination par un virus sauvage. Détection de particules selon les recommandations de la note spécifique relative aux vecteurs lentiviraux.

⁽³⁾ Détection de particules selon les recommandations de la note spécifique relative aux vecteurs lentiviraux. Les confinements A3 et A2 deviennent ensuite respectivement A2 et A1.

⁽⁴⁾ Les suspensions virales utilisées pour la thérapie génique doivent en outre répondre aux critères de qualité requis par l'Agence Française de la Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. Après tests démontrant l'absence de particules virales vecteurs dans les liquides biologiques, les patients ne sont plus soumis à confinement.