



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS T MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/19/19)

Título del ensayo

Inmunoterapia con linfocitos T diferenciados, adultos, autólogos, de sangre periférica, expandidos y transducidos (modificados genéticamente) mediante un vector lentiviral para que expresen un receptor quimérico con especificidad anti-CD30 asociado a secuencias coestimuladoras 4-1-BB y CD3z, en pacientes con linfoma de Hodgkin clásico y linfoma no-Hodgkin T con expresión CD30, de la Fundació Institut de Recerca de l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.

Características del ensayo

El período propuesto por el promotor del ensayo clínico para la liberación es de diciembre de 2019 a diciembre de 2021. El ensayo se realizará en el l'Hospital de la Santa Creu i Sant Pau y participarán un total de 30 pacientes. Se incluirán un total de 10 pacientes en la Fase I, distribuidos en 3 cohortes definidas por la cantidad de linfocitos T CAR30+/kg administrada. A continuación se incluirán otros 20 pacientes en la Fase II, tratados con la dosis máxima tolerada, previamente definida en la Fase I. Asumiendo que cada paciente recibiese la dosis máxima (10×10^6 linfocitos T CAR30+/kg de peso corporal) y que la media de peso de los pacientes sea de 70 kg, la cantidad máxima de OMG liberada sería de 7×10^8 linfocitos T CAR30+.

Se analizarán las muestras de sangre del paciente mediante un ensayo PCR en tiempo real, mediante análisis de citometría de flujo. El seguimiento se realizará por un periodo de hasta 2 años desde la infusión.

Características del OMG

El OMG (HSP-CAR30) son linfocitos T diferenciados, adultos, autólogos, de sangre periférica, expandidos y modificados genéticamente *ex vivo* para expresar un receptor quimérico antígeno-específico (CAR) dirigido frente al antígeno CD30, y asociado a secuencias coestimuladoras 4-1-BB y CD3z.

La transducción de los linfocitos T se realizará con partículas lentivirales que contienen el vector lentiviral que deriva del vector HIV7 y codifica CAR30, un receptor quimérico antígeno-específico dirigido contra la proteína CD30 humana y la secuencia truncada del receptor EGFR humano EGFRt (dominios III y IV del factor de crecimiento epidérmico), que permite la identificación de la expresión del CAR en las células T.

Evaluación del riesgo para la salud humana, animal y el medio ambiente

Teniendo en cuenta las características específicas del medicamento en investigación, el solicitante considera que la evaluación específica del riesgo ambiental prevista en las *Buenas Prácticas sobre la*



evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas genéticamente modificadas por medio de vectores retrovirales/lentivirales¹ es aplicable.

Identificación de riesgos potenciales

Las células humanas no pueden proliferar en el medio ambiente ya que solo pueden sobrevivir dentro del cuerpo humano o en condiciones de cultivo *in vitro*. De ello se deduce que, cuando el medicamento en investigación consta de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales, los riesgos para el medio ambiente y la salud pública están relacionados principalmente con la posibilidad de formación de un virus competente para la replicación y la presencia de partículas víricas residuales infecciosas del vector viral en el producto final que podrían liberarse al medio ambiente.

-Presencia de partículas virales libres

El proceso de fabricación de los linfocitos T CAR30 incluye varias etapas de lavado intensivo de las células. Durante estos pasos, el medio se descarta completamente, de modo que la existencia de partículas residuales del vector vira se reduce a cantidades insignificantes. En el peor de los casos analizados se detectaron 151 pg p24/mL que corresponde a 0,000151 ppm. No se ha detectado por PCR el gen VSVg en los productos terminados analizados ni se ha detectado capacidad infectiva en los ensayos realizados de transducción seriada (hasta 4 pases), por lo que se descarta la presencia de partículas víricas infectivas en el producto terminado. Se considera, por tanto, que las trazas de p24 detectadas que provienen de la materia prima utilizada en la fabricación del producto no representan un riesgo para el paciente.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (LCR)

Se considera que el riesgo de recombinación durante el proceso de producción es extremadamente improbable al utilizarse un lentivirus de tercera generación que requeriría 3 eventos de recombinación para producir una partícula vírica competente. Los lotes de validación de linfocitos T-CAR30 analizados muestran ausencia de virus competentes en replicación, mediante técnicas de Q-PCR del gen de la envuelta (VSVg) y transducciones seriadas del sobrenadante del producto final sobre células permisivas.

Por otra parte, el estudio de la existencia de lentivirus recombinantes competentes tanto en los lotes de producción (> 40) como en las > 600 muestras obtenidas de pacientes en más de 20 ensayos clínicos y con un seguimiento de hasta 8 años han sido siempre negativos, lo que demuestra la prácticamente nula probabilidad de que exista recombinación *in vivo* y generación de partículas víricas infectivas en un paciente que reciba células CART.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

El Producto terminado (HSP-CAR30) se envasa en bolsas de transferencia de plástico EVA (etilvinilacetato) estériles fabricadas bajo condiciones NCF (envase primario), es transportado a temperatura ambiente (15-25°C) en maletas homologadas para el transporte de productos hematopoyéticos al lugar de almacenamiento. Una vez confirmada la recepción, se notificará al personal del hospital y se enviará al lugar de administración para su infusión al paciente.

¹ https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg/notificaciones-y-autorizaciones/proc_autorizacion.aspx



El personal del hospital está entrenado en las mejores prácticas en el manejo del producto antes y durante la infusión, y en el manejo de los desechos: lavado de manos antes y después de la administración, con un limpiador antiséptico apropiado para las manos. Se debe usar bata, guantes, máscara y gafas de seguridad de laboratorio para la administración. Los linfocitos T CAR30 se administran al paciente mediante el uso de válvulas especiales conectadas a un catéter venoso, por lo que no se requiere el uso de agujas para perfusión.

En caso de exposición accidental, se podría inyectar un número mínimo de células T CAR30 (una lesión por pinchazo de aguja solo sería posible con una aguja contaminada después de la administración). Sin embargo, no se permite al personal hospitalario inmunocomprometido participar en el procedimiento de administración o en el tratamiento del paciente después de la administración, y por lo tanto, cualquier número mínimo de linfocitos T CAR30 sería rechazado por el sistema inmunitario de la persona expuesta accidentalmente.

Los pacientes tratados con células T HSP-CAR30 son pacientes con cáncer y, por lo tanto, se les impide donar sangre, células, tejidos y órganos.

El OMG restante así como cualquier material que haya entrado en contacto con él se consideran residuos pertenecientes al Grupo III y serán tratados como tal:

-Desechos sólidos: todo material que ha estado en contacto con el OMG debe manejarse y desecharse como material biopeligroso en contenedores homologados.

-Desechos líquidos: los líquidos que contienen OMG pueden desactivarse mediante blanqueador con cloro 1/50 (un 2% de concentración final) durante 2 minutos y luego deben desecharse en un contenedor para desechos biopeligrosos.

Las muestras para análisis interno y para estudios auxiliares se obtienen de sangre periférica del paciente, una vez administrado el OMG, se etiquetan y transportan dentro de cajas homologadas de transporte con empapador y bolsa de confinamiento que evitan su exposición al medio, hasta el laboratorio de análisis.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid, a 26 de septiembre 2019