



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/23/17)

Título del ensayo

Estudio fase 1, multicéntrico, abierto, de CC-97540 (BMS-986353), linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR) Nex-T dirigidos a CD19, en participantes con lupus eritematoso sistémico (LES) grave y refractario, número de ensayo CA061-1001, del promotor Celgene Corporation.

Características del ensayo

CC-97540 se perfundirá una vez por paciente a dosis que irán de 10 a 25 x 10⁶ linfocitos T viables positivos para CAR (linfocitos T CAR+).

Todos los sujetos que reciban CC-97540 serán vigilados hasta la finalización del estudio, cada 4 semanas durante 3 meses hasta el final del ensayo (2 años después de que el último sujeto haya recibido CC-97540). Posteriormente, se pedirá a los pacientes que se incorporen a un protocolo de seguimiento a largo plazo GC LTFU 001 durante un total de 15 años después de la última perfusión del medicamento.

En el ensayo se realizará en el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y el Hospital Universitari Vall d'Hebron.

Organismo Modificado Genéticamente (OMG)

El OMG, CC-97540 (también conocido como BMS-986353), consiste en linfocitos T autólogos de *Homo sapiens* transducidos con un vector lentiviral (VLV) que codifica un receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19 dirigido contra las células que expresan CD19.

El CAR específico de CD19 consistente en una secuencia de dominio de unión del fragmento variable de cadena única (scFv) aislado de una línea celular de hibridoma murino específico de CD19 (FMC63), fusionada en secuencia con la bisagra de IgG4, la proteína transmembrana CD28 y los dominios de señalización 4-1BB y cadena CD3ζ (zeta). También se coexpresa un receptor del factor de crecimiento epidérmico truncado (EGFRt) no funcional con el CAR específico de CD19 mediante un péptido autoescindido.

Las secuencias que codifican el CAR dirigido a CD19 y el EGFRt se introducen en los linfocitos T mediante la transducción *ex vivo* con un lentivirus autoinactivado (AIN) incompetente para la replicación, de tercera generación, v20006.

El vector lentiviral (VLV) v20006 es obtenido del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) y pseudotipado con la glucoproteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G).

El VLV CAR anti-CD19 (v20006) se fabrica mediante la transfección transitoria de la línea celular HEK293T con un plásmido de transferencia que contiene el genoma del vector viral, que incluye el transgén CAR anti-CD19, y el EGFRt y tres plásmidos de acondicionamiento que contienen genes para las proteínas estructurales y las enzimas del vector viral. Los cuatro plásmidos empleados para la producción del vector lentiviral comparten secuencias de plásmidos de estructura básica bacteriana homólogos necesarios para la producción de plásmidos.



Evaluación del riesgo.

-Ausencia de partículas de virus competentes para la replicación en el producto terminado (LCR)

Los sistemas de producción del vector lentiviral se han mejorado para reducir el riesgo de regeneración de virus competentes en replicación que puede surgir de la recombinación de los componentes del vector viral del genoma dividido. Aunque la homología entre los componentes del genoma dividido se ha reducido significativamente, alguna homología es inevitable debido al diseño actual de los vectores lentivirales.

La ausencia de formación de lentivirus competentes para replicación (LCR) a nivel del sistema de producción viral y el producto terminado se demuestra como sigue:

- 1) Diseño de vector para reducir al mínimo la presencia de secuencias necesarias para la formación de LCR.
- 2) Ausencia de formación de LCR en el sistema de producción viral.

Se realizan pruebas de LCR como parte de la liberación de la línea celular de acondicionamiento (células del final de la producción (EOPC)) y el VLV a granel para asegurar la ausencia de formación de LCR durante el proceso de fabricación del vector. Estas pruebas se han validado y se realizan como sigue de acuerdo con las directrices de la Ph. Eur. (Farmacopea Europea) y la orientación de la FDA:

La cantidad de EOPC y del producto del vector final estudiado es suficiente para asegurar una probabilidad del 95% de la detección de LCR si está presente a una concentración de 1 LCR/equivalente de dosis, de manera que se estudia al menos 3 veces la cantidad de vector por dosis de paciente. Los resultados de las pruebas para EOPC y vector final se confirman como negativos para LCR antes de la liberación del lote del vector lentiviral.

Además, la línea celular de empaquetado se confirma como negativa para VIH-1, VIH-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV u otros retro/lentivirus relevantes que pudieran conducir a la complementación/recombinación del vector retro/lentiviral antes de su uso.

- 3) Ausencia de LCR durante la monitorización del paciente después de la perfusión celular.

Después de la perfusión en los pacientes, se realizarán pruebas de LCR en diferentes momentos sobre el ADN genómico obtenido mediante una extracción de sangre periférica y, si es positivo, confirmado en células mononucleares en sangre periférica (CMSP).

-Presencia de partículas residuales de vectores virales infecciosos en el producto terminado

La eliminación de partículas infecciosas residuales del vector lentiviral tiene lugar en función tanto de los pasos de reducción durante el lavado como de degradación del vector durante el proceso de producción.

Teniendo en cuenta las fases de lavado durante el proceso de producción se ha calculado una reducción teórica de 8,4 log de partículas de vector lentiviral infeccioso estimando la cantidad teórica del reactivo en el producto final y comparando esto con la cantidad máxima de un reactivo introducido durante el proceso.

Además del lavado, la eliminación del vector tiene lugar en función de la degradación. Los vectores lentivirales derivados del VIH-1, como v20006, son inestables a 37°C con una semivida notificada



entre 1,3 y 10,4 horas, que es sustancialmente más corta que la duración típica postransducción de aproximadamente 72 horas a 37°C para el proceso de fabricación. En concreto, se ha notificado que los vectores basados en VIH-1 pseudotipado con G-VSV pierden alrededor del 90% de la actividad cuando se cultivan a 37°C hasta 48 horas.

Por tanto, la estimación teórica de la eliminación de 8,4 logs calculada de acuerdo con la eliminación debida a los pasos de lavado después de la operación de la unidad de transducción en combinación con eliminación adicional debida a la degradación basada en las condiciones de cultivo y en la semivida del VLV de 10 horas a 37°C y unas 72 horas típicas en cultivo postransducción, una estimación de la reducción acumulada de las partículas de VLV infecciosas en todo el proceso de fabricación de CC-97540 se calcula que es mayor de 8,4 logs dando lugar a una reducción sustancial de las cantidades de partículas del vector lentiviral residuales.

-Manipulación, control y tratamiento de residuos

Después de la confirmación de la fecha de entrega del producto al centro por parte del promotor, el medicamento en investigación (MEI) criopreservado se envía en un contenedor de transporte de vapor seco de nitrógeno líquido (N2L).

El día de la administración, son posibles diferentes opciones para descongelar el MEI y transportarlo hasta el paciente: descongelar en el lugar de preparación, en la cabecera de la cama del paciente o durante el transporte desde el lugar de almacenamiento. En cualquier caso, siempre que se transporte el medicamento en investigación se hará en recipiente cerrado y resistente para evitar derrames accidentales.

La protección del personal del centro clínico se asegurará mediante el uso de equipos de protección personal (p. ej., guantes, máscara, bata desechable, protección del pelo). La administración se realizará en centros médicos especializados equipados para la administración segura de productos biológicos o celulares y por parte de profesionales sanitarios con experiencia, debidamente formados en procedimientos de higiene y normas relativas a la seguridad y la manipulación de materiales infecciosos. CC-97540 contiene los linfocitos T humanos autólogos del paciente y, por tanto, los profesionales sanitarios deben emplear precauciones universales para la prevención de la transmisión de infecciones transmitidas por la sangre. En caso de vertido accidental del medicamento, la descontaminación y limpieza del hospital se realizan de acuerdo con los procedimientos del hospital, con equipo de protección personal, cubriendo el vertido con absorbente, aplicando un desinfectante aprobado por el hospital durante un tiempo de contacto adecuado y eliminando los residuos como biopeligrosos.

El medicamento en investigación utilizado parcialmente o no utilizado (material restante en las bolsas), las bolsas, las láminas de barrera absorbentes, cualquier suministro utilizado en el proceso de preparación y administración, incluido el equipo de administración IV, debe eliminarse de acuerdo con los procedimientos del centro para la eliminación de residuos biopeligrosos de tejidos con patógenos transmitidos por la sangre o material de pacientes potencialmente infeccioso. Las bolsas de transfusión y el equipo de protección utilizados se recogerán en una bolsa sellable y se colocarán en un contenedor dedicado y debidamente etiquetado, que luego se llevará a la sala de residuos del centro médico.

Para la limpieza y desinfección del entorno clínico después del uso, no es necesario tomar medidas adicionales ya que no hay riesgo adicional en comparación con cualquier otra sala de pacientes. Se



usará etanol al 70% para la desinfección habitual en las superficies usadas. En caso de un vertido, la superficie se tratará con 1.000 ppm de cloro.

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 del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). 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 21 de septiembre de 2023