



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS T HUMANAS MODIFICADAS GENÉTICAMENTE (NOTIFICACIÓN B/ES/22/23)

Título del ensayo

Estudio abierto de búsqueda de dosis y expansión de dosis para evaluar la seguridad, la proliferación, la persistencia y la actividad clínica de UCART20x22 (en pacientes con linfoma no Hodgkin de células B (LNH-B) en recidiva o refractario), del promotor Collectis S.A.

Características del organismo modificado genéticamente

UCART20x22, consiste en células T maduras humanas, procedentes de donantes sanos, transducidas con un vector lentiviral deficiente en la replicación para expresar receptores antigénicos quiméricos dirigidos contra los antígenos CD20 y CD22 y editadas genéticamente para inactivar los genes TRAC y CD52, mediante la tecnología TALEN.

- La inactivación del gen CD52 permitirá el uso de un anticuerpo monoclonal anti-CD52 (por ejemplo, alemtuzumab) como parte del régimen de linfodepleción administrado antes de la infusión de UCART20x22.
- La inactivación del gen TRAC previene la expresión en la superficie celular del receptor de células T de tipo $\alpha\beta$ (TCR $\alpha\beta$), minimizando el riesgo de enfermedad de injerto contra huésped (EICH).

El vector lentiviral es un vector recombinante de tercera generación, con defecto de replicación y autoinactivante, en el que se han eliminado todas las secuencias que codifican proteínas retrovirales. La partícula viral híbrida está formada por proteínas derivadas del VIH-1 (Gag/Pol y Rev) y la glicoproteína de la envoltura del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G).

Para la producción del vector viral, se utiliza un sistema de empaquetamiento dividido en el que los elementos de empaquetamiento viral necesarios se introducen en las células productoras (HEK293T) mediante tres plásmidos independientes. Se requiere un total de cuatro plásmidos separados para el proceso de fabricación: una construcción que expresa la proteína heteróloga de la envoltura viral VSV-G, una construcción que codifica las proteínas virales Gag y Pol, una construcción que codifica la proteína viral Rev y una construcción que alberga el transgén (CD22CAR y CD20CAR).

Además, las células se modifican genéticamente con la ayuda del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que codifica TALEN[®] para interrumpir específicamente los genes de la región del receptor α de linfocitos T (TRAC) y CD52 y que se vectoriza en las células mediante electroporación lo que permite la expresión transitoria de la proteína TALEN[®] en las células T. Gracias a las propiedades de estabilidad del ARNm, este método de vectorización no replicativo y no persistente permite que las proteínas TALEN[®] se expresen durante un corto período de tiempo.

Características del ensayo

El volumen máximo que puede recibir un paciente de ≥ 50 kg durante el estudio es de 37,5 ml, lo que corresponde a una dosis de 450×10^6 células CAR+.

En el ensayo participarán la Clínica Universitaria de Navarra, el Hospital Vall d'Hebron, el Hospital Clínico Universitario de Valencia y el Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.



Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Ausencia de virus competentes en replicación (RCL)

Las células utilizadas para la fabricación del OMG proceden de donantes sanos VIH y HTLV negativos y, además, se someten a pruebas de ausencia de virus humanos, incluidos el VIH-1/VIH-2 y el HTLV-1/HTLV-2.

Los pacientes que resulten positivos al VIH-1/VIH-2 o al HTLV-1 no podrán participar en el ensayo clínico de acuerdo con los criterios de exclusión establecidos en el protocolo del estudio.

La detección de lentivirus competentes para la replicación (RCL) utilizando la línea celular detectora C8166 (línea celular derivada de linfocitos T humanos que ha demostrado ser altamente permisiva para la amplificación de RCL) se lleva a cabo de acuerdo con las directrices de la Agencia Europea de Medicamentos sobre el desarrollo y la fabricación de vectores lentivirales, y la orientación complementaria de la FDA sobre las pruebas para detectar retrovirus competentes para la replicación en productos de terapia génica retroviral.

El mismo método se utiliza para el vector viral, las células de fin de producción y el producto UCART20x22.

El ensayo QFPERT (PCR-based RT assays) para detectar la conversión del molde de ARN en ADNc (debido a la presencia de la enzima RT cuando los retrovirus están presentes en la muestra).

En ausencia de efecto citopático y de actividad de la transcriptasa inversa (RT), se concluye que el resultado es negativo. Si se detecta efecto citopático o actividad de RT se estima que puede haberse detectado retrovirus infeccioso. En este caso, se pueden realizar más pruebas de confirmación mediante un ensayo de infectividad para determinar si la actividad RT se debe a un retrovirus infeccioso.

En los lotes analizados de vector viral, células de fin de producción y el producto final UCART20x22 no se han detectado RCL.

-Presencia de partículas virales libres

Aplicando las recomendaciones proporcionadas en el documento de [Buenas Prácticas sobre la evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas modificadas genéticamente](#), se determinó la tasa de reducción de partículas de vectores lentivirales, teniendo en cuenta el inóculo de vector, el número de pasos de lavado y de lavado inactivante. Esta tasa de reducción calculado de forma conservadora apoya la conclusión de que las partículas lentivirales residuales en las células de fin de producción de UCART20x22 se han reducido a concentraciones insignificantes.

Manipulación, control y tratamiento de residuos

Durante el ensayo clínico se aplicarán las medidas higiénicas hospitalarias estándares.

El transporte interno del OMG se realiza en un embalaje cerrado, a prueba de roturas y de fugas.

Antes de preparar o proceder a la infusión intravenosa de UCART20x22, el personal del centro debe llevar equipamiento/ropa de protección personal (que se adaptará de acuerdo con las normas de cada hospital): bata de laboratorio, guantes, protección ocular, vestimenta larga para evitar la exposición de la piel y calzado cerrado.

Durante la administración de UCART20x22 al paciente, deben mantenerse en todo momento las precauciones universales, según las directivas institucionales del hospital.



Se utilizarán detergentes y métodos de desinfección adecuados y validados para la descontaminación y desinfección.

Todos los restos del producto se eliminarán como residuos hospitalarios biológicos.

Todos los residuos desechables que hayan estado en contacto con el OMG durante su preparación y administración se eliminarán como residuos hospitalarios biológicos. Los materiales no desechables se desinfectan con detergentes adecuados y validados o se esterilizan en autoclave. Los residuos del muestreo y del procesamiento de las muestras se eliminan como residuos hospitalarios biológicos.

El promotor dispone de manual en el que se recogen medidas de bioseguridad que hace llegar a los centros que participan en el ensayo.

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.

Sin embargo, la CNB recuerda que los laboratorios en los que se manipulen (procesen, analicen, etc.) muestras clínicas de pacientes deben cumplir, como mínimo, con los requisitos del nivel de bioseguridad 2.

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 17 de noviembre de 2022