



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE LINFOCITOS AUTÓLOGOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/19/01)

Título del ensayo

Ensayo clínico para la evaluación de la seguridad y la eficacia de KTE-X19 en pacientes con neoplasias malignas de células B resistentes o recidivantes, de la empresa Kite Pharma, Inc.

Características del ensayo

El ensayo se realizará en Hospital Clínic de Barcelona. Participarán un máximo de aproximadamente 108 sujetos. El producto se perfundirá directamente desde la bolsa que lo contiene a través de un catéter intravenoso, sin ningún paso de dilución intermedio, en una dosis de $0,5 \times 10^6$ a $2,0 \times 10^6$ células T CAR-positivas/kg de peso corporal del paciente.

Los pacientes serán sometidos a controles a los 3, 6, 12 meses y anualmente durante 15 años.

Organismo Modificado Genéticamente (OMG)

El OMG consiste en células T CD3+ humanas transducidas con un vector gamma-retroviral deficiente en la replicación (vector PG13 CD19-H3) para expresar un receptor CAR anti-CD19 transmembrana.

El vector PG13 CD19-H3, se basa en el virus de las células madre murinas (MSGV1). Es un vector híbrido con las proteínas accesorias Gag-Pol del virus de la leucemia murina de Moloney (MoMLV) y la envoltura del virus de la leucemia del gibón (GALV), ambas contenidas y producidas en la estirpe celular de ratón PG13.

El CAR anti-CD19 está constituido por un dominio de unión específico anti-CD19 que deriva de un anticuerpo monoclonal, un dominio transmembrana y bisagra, que une el dominio de unión a la diana con los elementos activadores del interior de la célula y proporciona flexibilidad estructural para facilitar la unión óptima a la diana, y un dominio activador localizado en el interior de la célula T constituido por el elemento CD3-zeta, que aporta la primera señal dentro de la célula T, y el elemento CD28, que aporta una señal coestimuladora adicional que fomenta la supervivencia, la persistencia y la actividad antitumoral de la célula T. En conjunto, estas señales desencadenan la activación de la célula T, con el resultado de que la célula T CAR prolifera y destruye directamente a las células normales y malignas que expresan CD19. Además, la activación de las células T estimula la secreción local de citocinas y de otras moléculas capaces de reclutar y activar a otras células inmunitarias antitumorales.

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

Hay varios aspectos que contribuyen a la eliminación del vector PG13-CD19-H3 residual durante el proceso de fabricación de KTE-X19: inestabilidad a 37 °C, inactivación en el medio de cultivo celular o unión a superficies de producción y eliminación mediante pasos de lavado.

Los vectores retrovirales son inestables a temperaturas fisiológicas con una semivida a 37 °C que va de 2 a 4 horas.

En el proceso de fabricación de KTE-X19 no se incluye ningún paso de inactivación del vector viral. El vector PG13-CD19-H3 que no haya infectado una célula T tras el paso de transducción perderá infectividad durante el crecimiento y la expansión celular (mínimo de 3 días) por degradación y continuará eliminándose del proceso de fabricación mediante un paso de lavado al recolectar el cultivo antes de la formulación final. Todos los pasos de lavado del cultivo se realizan utilizando el dispositivo Sepax 2 de sistema cerrado. Cada programa de lavado del cultivo del dispositivo Sepax 2 consta de tres operaciones de lavado individuales.

La dosis de KTE-X19 se proporciona a los pacientes en un volumen de aproximadamente 40 ml o 70 ml; cualquier partícula residual del vector viral se diluirá rápidamente en el torrente sanguíneo del paciente y probablemente se inactive o se elimine de la circulación mediante el componente de complemento del suero humano.

Los resultados de reducción de partículas víricas libres obtenidos al analizar 5 lotes de producto indican que el riesgo de presencia de estas partículas es insignificante.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de virus competentes para la replicación (RCV)

El banco de células de trabajo y el banco de células patrón PG13-CD19-CAR-H3, así como cada lote del vector, se han analizado para detectar retrovirus competentes para la replicación (RCR), y todos los materiales han producido resultados negativos. El vector PG13-CD19-H3 codifica solo la LTR 5', el elemento de empaquetado Psi+, el transgén CAR FMC63-CD28ζ y la LTR 3'. La mayor parte de la secuencia nativa del retrovirus-γ no está presente en el vector PG13-CD19-H3 lo que hace que sea un vector no replicativo minimizando cualquier riesgo potencial de producción de RCR, ya que se requerirían varios eventos de recombinación independientes para la generación de un RCR funcional.

También se ha analizado varios lotes de producto final con RCR mediante el método S+L- y mediante un PCR obteniéndose resultados negativos.

Se ha analizado la presencia de RCR en pacientes participantes en otros ensayos clínicos con KTE-X19 y no se ha detectado la presencia de RCR.



Manipulación, control y tratamiento de residuos

El producto se transporta al hospital en nitrógeno líquido seco (tanque), donde será descongelado, y se perfunde al paciente. El transporte se realizará en un recipiente desinfectado, adecuadamente etiquetado, cerrado herméticamente e irrompible.

Una vez que se administre al paciente, la bolsa junto con los tubos utilizados para la administración, y cualquier otro componente que haya estado en contacto con el producto antes y durante la administración, se eliminarán como residuos biológicos infecciosos de categoría III.

Se proporcionará material didáctico específico que incluirá información sobre equipos de protección, manipulación segura, descontaminación y eliminación de residuos, así como procedimientos de respuesta a incidentes. Disponen de un documento de instrucciones para el personal sanitario en el que se recoge esta información. En estas instrucciones se indica que debe tomar las precauciones universales para la prevención de la transmisión de infecciones transmitidas por la sangre.

Todas las superficies de trabajo que entren en contacto con el OMG se desinfectarán de acuerdo con los procedimientos de higiene del hospital/centro, por ejemplo, con una solución de etanol al 70%.

Los productos desechables, como jeringuillas, sondas, catéteres y desechos de cirugía (guantes, compresas), se tratarán y eliminarán como residuos biológicos infecciosos, categoría III, de acuerdo con los procedimientos del hospital.

Las muestras de los pacientes serán analizadas en distintos laboratoriosⁱ a los que serán transportadas de forma segura para evitar derrames accidentales.

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad.

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. 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 12 de junio de 2019

ⁱ **Los laboratorios en los que se analicen muestras clínicas de pacientes deben cumplir, como mínimo, con los requisitos del nivel de bioseguridad 2.**

Documento de apoyo:

- Manual de seguridad en el laboratorio de la OMS. 2005
- Guía Técnica para la evaluación y la prevención de los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos. Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo. 2014
- Real Decreto 664/1997, de 12 de mayo
- Real Decreto 178/2004, del 3 de enero