

MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/19/05
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	16 Enero 2019
d) Título del proyecto:	Ensayo fase I-IIa para evaluar la seguridad y la actividad antitumoral de células T autólogas con receptor quimérico anti-CD44v6 en leucemia mieloide aguda y mieloma múltiple con expresión de CD44v6
e) Período propuesto para la liberación:	Duración del estudio: 48 meses Marzo 2019 a Marzo 2023

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	MolMed SpA, Via Olgettina 558 20132 Milano (Italia)
-------------------------------------	--

3. Definición del OMG

El OMG (células T MLM-CAR44.1) está definido como linfocitos T de un paciente congelados y genéticamente modificados para expresar un CAR específico de CD44v6 (CAR CD44v6 Δ NL) y un gen suicida HSV-TK Mut2, que codifica una forma mutada de la timidinquinasa del virus Herpes Simplex I (HSV-TK).

Está concebido como un tratamiento para pacientes que sufren LMA (leucemia mieloide aguda) o mieloma múltiple (MM). La transducción de linfocitos tiene lugar mediante un vector recombinante retroviral γ (CAR-CD44v6 Δ NL) derivado del virus de la leucemia murina de Moloney sobre la base del vector LXS_N (VLMM) (MoMuLV) y pseudotipado con una envoltura GaLV (virus de leucemia del simio gibón). Este vector recombinante retroviral γ tiene la capacidad de transducir células mamíferas, incluyendo las células humanas, excepto las células del ratón. El diseño del vector retroviral (VR) CAR-CD44v6 Δ NL es de replicación deficiente y se ha producido usando la línea de células empaquetadoras PG13 (ATCC # CRL-10686), caracterizada por la segregación de las secuencias virales necesarias para el empaquetado en dos plásmidos diferentes: uno para gag y pol, el otro para el GaLV env.

a) Indíquese si el OMG es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)
 Género: Homo; especie: H. Sapiens (linfocitos humanos genéticamente modificados)

c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:
 Estable

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: IT, CZ y DE	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo:	
- Estado miembro de la notificación:	
- Número de la notificación:	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación: 	

7. Resumen del impacto ambiental potencial de la liberación de los OMG

Los riesgos medioambientales por medicamentos o sustancias medicinales que contienen o consisten en un OMG deben tratarse conforme a la Directiva 2001/18/EC respecto a la liberación intencionada de organismos genéticamente modificados en el medio ambiente.

El producto de células T MLM-CAR44.1 se define como linfocitos T de un paciente congelados y genéticamente modificados para expresar un CAR específico de CD44v6 (CAR CD44v6 Δ NL) y un gen suicida HSV-TK Mut2, que codifica una forma mutada de la timidinkinasa del virus Herpes Simplex I (HSV-TK).

Está concebido como un tratamiento para pacientes que sufren LMA (leucemia mieloide aguda) o mieloma múltiple (MM). Las células T MLM-CAR44.1 son principalmente linfocitos T CD3+. Las células T MLM-CAR44.1 son sensibles al ganciclovir.

La transducción de linfocitos tiene lugar mediante un vector recombinante retroviral γ (CAR-CD44v6 Δ NL) derivado del virus de la leucemia murina de Moloney sobre la base del vector LXSN (VLMM) (MoMuLV) y pseudotipado con una envoltura GaLV (virus de leucemia del simio gibón). Este vector recombinante retroviral γ tiene la capacidad de transducir células de mamíferos, incluyendo las células humanas, excepto las células del ratón. Codifica un receptor CAR específico de CD44v6 (es decir, CAR CD44v6 Δ NL) y una forma mutada de HSV-TK (es decir, HSV-TK Mut2) bajo el control de los promotores LTR y SV40 respectivamente. No codifica ningún marcador de resistencia a antibióticos ni ninguna función patogénica, tóxica, alergénica u oncogénica. No codifica para otras secuencias funcionales de HSV-TK fuera de la TK Mut2.

El vector retroviral (VR) CAR-CD44v6 Δ NL es de replicación deficiente por diseño y se produce utilizando la línea de células empaquetadoras PG13 (ATCC # CRL-10686), caracterizada por la segregación de las secuencias virales necesarias para el empaquetado en dos plásmidos diferentes: uno para gag y pol, el otro para env. Después de la transducción, el provirus CAR-CD44v6 Δ NL queda integrado de forma estable en el genoma de la célula anfitriona.

Con el análisis de control de calidad del lote final de células T MLM-CAR44.1 se comprobó que está libre de virus adventicios y de potenciales contaminantes microbianos. Además, el análisis de los lotes fue negativo respecto a retrovirus competentes para la replicación, RCR, con un ensayo RT-PCR detectando genes GaLV y gag-pol como indicadores de recombinación.

Las células T MLM-CAR44.1 están formuladas como una suspensión de células congeladas a una concentración de 1 a 10x10⁶ células/ml que se administrará a los pacientes en escalada de dosis.

El tratamiento de los pacientes tendrá lugar bajo estrictas condiciones asépticas en un hospital con condiciones seguras de administración que garantizan un contacto mínimo o nulo del producto con el personal y/o el medio ambiente. Se realizará lavado de manos antes y después de la administración, ya sea con jabón y agua corriente

o un limpiador antiséptico apropiado para las manos. Se usará bata guantes, máscara y gafas de seguridad de laboratorio para la administración. Los linfocitos T MLM-CAR44.1 se administrarán 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. Se llevará a cabo únicamente por personal del hospital instruido para minimizar el riesgo de transmisión involuntaria de las células T MLM-CAR44.1 a sujetos humanos no diana o al medioambiente.

Bajo estas condiciones seguras de administración, una exposición del personal del hospital puede tener lugar únicamente si ocurre algún accidente. Una liberación al medioambiente es prácticamente imposible ya que tendrá lugar una desinfección, una descontaminación y una desactivación de los desechos. Procedimientos adecuados de limpieza se realizarán para prevenir la dispersión del OMG, cualquier derrame del OMG puede ser inactivado con lejía 1/50 (concentración final al 2%) durante 2 minutos y luego se desechará en un contenedor para restos peligrosos. En experiencias anteriores con un OMG similar usado por MolMed en dos estudios clínicos, el ensayo de fase I/II (TK007) y el ensayo de fase III todavía en marcha (TK008), no se registraron eventos inesperados o accidentes durante la administración.

Respecto a la generación de retrovirus competentes para la replicación, el uso de la línea de células empaquetadoras PG13 usada para la producción del vector retroviral CAR-CD44v6 Δ NL es ampliamente utilizada y reconocida como herramienta segura para la producción de vectores retrovirales (Miller, et al. J Virol 1991), porque no se han observado casos de complementación de un provirus de vector retroviral de replicación deficiente con secuencias de la línea celular. Se caracteriza por la segregación de las secuencias virales necesarias para el empaquetado en dos plásmidos auxiliares diferentes: uno para gag y pol (pLGPS), el otro para la envoltura GaLV (pMOV-GaLV), ambos contienen una supresión de la secuencia de empaquetado Ψ^+ . La consecuencia de la técnica de línea de células empaquetadoras es que no se insertan las secuencias de plásmidos auxiliares en el genoma del vector retroviral CAR-CD44v6 Δ NL y tampoco se empaquetan en partículas del vector retroviral CAR-CD44v6 Δ NL. Este sistema de empaquetado conocido como de tercera generación minimiza el riesgo de generación de RCR. En efecto, en un estudio multicéntrico incluyendo muestras de 10 grupos de investigación que participaron en 14 ensayos clínicos, de los cuales todos excepto uno utilizó la línea celular PG13, no se presentó evidencia alguna de RCR en 282 productos celulares transducidos así como en los 241 sujetos examinados post-tratamiento en búsqueda de RCR (Cornetta et al. Mol Ther: Meth & Clin Dev, 2018). Asimismo, se llevaron a cabo ensayos RCR basados en las recomendaciones de la FDA que no presentaron evidencia alguna de RCR en la línea de células empaquetadoras y tampoco en el vector retroviral CAR-CD44v6 Δ NL que se utiliza para la transducción de células T. Dichas recomendaciones están recogidas en la Guías para la Industria de la FDA: “Guía suplementaria sobre las pruebas para la replicación de retrovirus competentes en productos de terapia génica basada en vectores retrovirales y durante el seguimiento de pacientes en ensayos clínicos que utilizan vectores retrovirales”. El ensayo se llevó a cabo con células Mus dunni de las cuales se conoce que no contienen secuencias retrovirales endógenas, con el objetivo de verificar la ausencia de retrovirus competentes para la replicación (Allan et al. Leukemia & Lymphoma 1996).

Respecto a la generación post-administración de RCR, los resultados presentados por Cornetta et al (Mol Ther: Meth & Clin Dev, 2018) coinciden con el seguimiento

post-administración llevado a cabo por Molmed para los estudios TK007 y TK008, en los que no se comprobó generación detectable alguna de RCR en 150 muestras de 30 pacientes durante 12 meses. El análisis se llevó a cabo con una PCR cuantitativa de alta sensibilidad con un límite de cuantificación de 1 célula positiva / 75.000 células con un límite de confianza del 95%.

El conjunto de todos estos resultados apoya la conclusión de que el riesgo de una generación post-administración de RCR es insignificante porque: a) por lo menos tres eventos de recombinación con CAR-CD44v6 Δ NL serían necesarios para obtener capacidad de replicación, b) las secuencias de retrovirus humanos endógenos (HERVs) no mostraron homología alguna con el CAR-CD44v6 Δ NL de acuerdo con un test de alineación BLAST, c) las células recombinantes resultado de una posible co-infección de células T MLM-CAR44.1 y retrovirus animales, no infectan células humanas. Además, hasta el momento, no se ha detectado recombinación de lentivirus con retrovirus en ninguno de los numerosos ensayos clínicos de terapia génica en vivo con vectores retrovirales y lentivirales, con lo que se puede concluir que es improbable que ocurra.

Para que los RCR tengan un efecto adverso en personas y en el medioambiente sería necesario generar un número considerable de RCR y ser eliminados por el paciente. Además, sería necesario verificar que los RCR pueden sobrevivir en el medioambiente para que accedan a potenciales huéspedes no diana. Los retrovirus y los vectores retrovirales son sensibles a cualquier detergente estándar, a condiciones no fisiológicas de pH o de temperatura. En el remoto caso de que se generen RCR, se ha comprobado que un sujeto debe estar expuesto a infecciones repetidas con un número elevado de RCR para mostrar los efectos negativos de la infección, ya que la patogenicidad es extremadamente baja. (Anderson et al. Hum Gene Ther 1993).

Además de la potencial formación de RCR se han tomado en cuenta las siguientes características de las células T MLM-CAR44.1 para la evaluación del riesgo medioambiental:

a) Las células T MLM-CAR44.1 son linfocitos T transducidos terminalmente diferenciados incapaces de sobrevivir fuera del paciente diana, a menos que se hayan inyectado a individuos inmunológicamente comprometidos. Las células T MLM-CAR44.1 son sensibles al ganciclovir. Los pacientes tratados se han excluido para donaciones de sangre.

b) CAR-CD44v6 Δ NL es incapaz de replicarse y no expresa atributos que podrían tener efectos adversos en huéspedes no diana. De acuerdo con el protocolo de fabricación, no se espera la presencia del vector CAR-CD44v6 Δ NL libre en los lotes de las células T MLM-CAR44.1, porque las células T MLM-CAR44.1 han sido inmunoseleccionadas a fin de obtener una población altamente purificada de células transducidas y este paso junto con los diversos lavados que tienen lugar durante el proceso, permite a las células T MLM-CAR44.1 estar libres de partículas residuales del vector retroviral CAR-CD44v6 Δ NL. Además, la integración en las células T MLM-CAR44.1 es estable y hasta ahora no se han detectado reorganizaciones génicas. El CAR-CD44v6 Δ NL no alberga secuencia alguna que podría significar una ventaja competitiva en sí o recombinado con retrovirus y no afecta a ningún potencial tratamiento médico. Aunque tenga lugar un pseudotipado con la envoltura GaLV y con las partículas virales libres CAR-CD44v6 Δ NL donde estén presentes, podrían infectar a cierto número de huéspedes animales incluyendo huéspedes humanos y a cierto número de distintos tipos de células, sólo las células en replicación activa pueden infectarse cuando son expuestas a un número considerable

de partículas virales. Una infección puede tener lugar solamente bajo la presencia de agentes específicos (por ejemplo, la protamina) que facilitan la adhesión viral a la membrana de la célula y su entrada. Las partículas virales libres serían eliminadas por el sistema del complemento de individuos sanos e inmunocompetentes.

Considerando lo anterior, no se esperan efectos adversos de las células T MLM-CAR44.1 o de CAR-CD44v6ΔNL libre y por lo tanto no se esperan consecuencias negativas para las personas y para el medioambiente. Además, la generación de RCR es muy poco probable. Por lo tanto, podemos concluir que el riesgo de la utilización de células T MLM-CAR44.1 para personas y para el medioambiente es insignificante.

En casos en que el personal del hospital sea expuesto accidentalmente a las células T MLM-CAR44.1, la única posibilidad que no puede excluirse completamente, no se esperarían efectos adversos ya que no se permite participar en la administración de células T MLM-CAR44.1 a personas inmunológicamente comprometidas y la potencial exposición sería tan sólo una pequeña fracción de la cantidad inyectada a los pacientes. Además, las personas expuestas podrían ser sometidas a seguimiento dentro del contexto del plan de farmacovigilancia aplicada a los pacientes.

El seguimiento post-administración de los pacientes para evaluar RCR tendrá lugar a los 3 meses, 6 meses, 1 año y luego anualmente (ref: Guidance for Industry - Supplemental Guidance Retroviral Testing for Retroviral Retroviral Vector Based Gene Therapy Products and Follow-up of Patients in Clinical Trials Using Retroviral Vectors - FDA November 2006). La presencia de RCR en la sangre del paciente sería la primera indicación de una generación de RCR y se consideraría llevar a cabo un tratamiento anti-retroviral antes de que el RCR se propague en el medioambiente.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :

- | | |
|-------------|-------------------------------------|
| Viroide | <input type="checkbox"/> |
| Virus ARN | <input type="checkbox"/> |
| Virus ADN | <input type="checkbox"/> |
| Bacteria | <input type="checkbox"/> |
| Hongo | <input type="checkbox"/> |
| Animal | <input type="checkbox"/> |
| - mamíferos | <input checked="" type="checkbox"/> |
| - insectos | <input type="checkbox"/> |
| - peces | <input type="checkbox"/> |

- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Primates
ii) Género: Homo
iii) Especie: Homo sapiens
iv) Subespecie: NA
v) Cepa: NA
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): NA
vii) Nombre vulgar: linfocitos

3. Distribución geográfica del organismo *No Relevante (NR)*

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:	
i) Sí	<input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
Atlántico	<input type="checkbox"/>
Mediterráneo	<input type="checkbox"/>
Boreal	<input type="checkbox"/>
Alpino	<input type="checkbox"/>
Continental	<input type="checkbox"/>
Macaronésico	<input type="checkbox"/>
ii) No	<input type="checkbox"/>
iii) No se sabe	<input type="checkbox"/>
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?	

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

No Relevante. Los linfocitos humanos tienen la capacidad de sobrevivir solamente en condiciones in vitro muy restringidas bajo la presencia de citoquinas o dentro del cuerpo humano.

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros , (especifíquense):	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	

5. a) Técnicas de detección

No Relevante.

5. b) Técnicas de identificación

Los linfocitos humanos pueden identificarse por la expresión de los marcadores específicos de linaje tales como los CD3, por la inmunofluorescencia con anticuerpo específico o por técnicas moleculares tales como la PCR.

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese:	

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo		

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:	
humanos	<input type="checkbox"/>
animales	<input type="checkbox"/>
plantas	<input type="checkbox"/>
otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.	

8. Información sobre reproducción *No Relevante*

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:	
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:	
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción:	

9. Capacidad de supervivencia

No relevante para este producto ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente dentro del cuerpo humano o en condiciones in vitro muy restringidas bajo la presencia de citoquinas.

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
i) endosporas	<input type="checkbox"/>
ii) quistes	<input type="checkbox"/>
iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
vi) huevos	<input type="checkbox"/>
vii) pupas	<input type="checkbox"/>
viii) larvas	<input type="checkbox"/>
ix) otras (especifíquense)	
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia	

10. a) Vías de diseminación

No relevante para este producto ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente dentro del cuerpo humano o en condiciones in vitro muy restringidas bajo la presencia de citoquinas.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

No relevante para este producto ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente dentro del cuerpo humano o en condiciones in vitro muy restringidas bajo la presencia de citoquinas.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

No hay.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

- | | |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base | <input type="checkbox"/> |
| iv) Fusión celular | <input type="checkbox"/> |
| v) Otro (especifíquese) | |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Obtener la expresión de dos transgenes por las células T MLM-CAR44.1: 1) el receptor de antígenos quimérico (CAR) CD44v6 Δ NL específico para el antígeno CD44v6 expresado por las células tumorales; 2) el gen suicida HSV-TK Mut2 que permite eliminar las células transducidas por la administración de GCV si tiene lugar un evento adverso. Las células T MLM-CAR44.1 que expresan CAR ejercen sus funciones efectoras tales como la producción de citoquinas cuyo resultado final es la eliminación de las células tumorales.

3. a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3. b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

a) Tipo de vector	
plásmido	<input type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input checked="" type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector: El CAR-CD44v6 Δ NL) es vector retroviral γ de replicación deficiente derivado del virus de la leucemia murina de Moloney sobre la base del vector LXSN (MoMuLV) y pseudotipado con una envoltura GaLV (virus de leucemia simio gibón). Este vector recombinante retroviral γ tiene la capacidad de transducir células mamíferas incluyendo las células humanas, excepto las células del ratón.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: La gama de huéspedes de los vectores recombinantes MoMuLV depende de la especificidad de la envoltura viral. El GaLV (virus de leucemia del simio gibón) conduce a la infección de una amplia gama de células mamíferas incluyendo las células humanas, excepto las células del ratón.	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
HSV-TK Mut2 induce sensibilidad a Ganciclovir.	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
En el provirus integrado no hay genes de resistencia antibiótica.	

e) Fragmentos constituyentes del vector

Elemento genético	Función
5' LTR (repetición terminal larga)	Promotor transcripcional
$\Psi+$ gag	Las secuencias virales que contienen la señal $\Psi+$, responsable de la formación de viriones completos, (Miller y Rosman 1989) y 700bp del gen MoLV gag, que no genera transcripción funcional alguna, ya que el ATG de codón inicial estaba modificado en un TAG de codón de terminación
HSV-TK Mut2	Gen suicida
SV40 (Virus Simian 40)	Promotor transcripcional
CAR CD44v6 Δ NL (ORF)	Gen terapéutico y de selección
Secuencia viral y 3' LTR	Terminación transcripcional y poliadenilación

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense) Transduccion ex vivo

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación?

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:
b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:
c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG

En respuesta a a) b) y c):

Repetición terminal larga (Long Terminal Repeats = LTR):

Los LTRs son de origen retroviral. El 5' LTR se usa para promover la transcripción del gen terapéutico subsiguiente (HSV-TK Mut2) mientras que el 3' LTR se usa para terminar la señal de transcripción y poliadenilación.

Genes estructurales

Los siguientes fragmentos virales se han insertado en los linfocitos y son necesarios para la formación completa y funcional de los viriones.

Los genes estructurales están compuestos de un fragmento 420 bp del gen gag y de la señal de empaquetado Ψ^+ , ambos son de origen retroviral.

El gen de gag se elimina de 700 bp. Por lo tanto, la porción de gag incluida en el vector corresponde a 420 bp. Es notable que la secuencia de gag no se ha expresado porque el ATG de codón inicial para la proteína del gag en el vector original se había mutado para generar un TAG de codón de paro a fin de prevenir la síntesis de proteínas virales (Miller et al. Biotechniques, 1989). Por lo tanto, solamente una porción limitada del genoma original completo del virus parental está presente en el vector parental, ya que le faltan ambos genes el env y el pol y solamente está presente una porción limitada del gag.

La función de la señal de empaquetado Ψ^+ permite el empaquetado del genoma del vector en partículas virales durante el proceso de elaboración del vector retroviral. No hay proteínas expresadas desde esta secuencia.

HSV-TK Mut2

El gen suicida HSV-TK Mut2 codifica una forma mutada de la enzima timidinaquinasa del virus del herpes simplex I cepa CL101 (Abelson et al. Cancer Res, 1970). Fue generado por una mutagénesis dirigida que originó una transición silenciosa al sustituir una T por una C en el lugar de empalme del HSV-TK originario (Patente Europea EP 1 781 789 en el nombre de MolMed SpA). Se ha comprobado que la mutación evita la generación de un sitio de empalme responsable de la generación de variantes resistente a ganciclovir (GCV) de HSV-TK.

El HSV-TK Mut2 sensibiliza la célula transducida a GCV, así es posible la selección negativa de células transducidas si se produce un efecto adverso. Después de su administración se monofosforila en primer lugar el GCV mediante la enzima timidinaquinasa del HSV expresada en las células genéticamente modificadas y luego otras quinasa celulares lo transforman a la forma trifosfato. Esta forma activa bloquea la síntesis de nuevas cadenas de ADN durante la mitosis, y por lo tanto provoca la muerte de células en proliferación. No hay elementos funcionales derivados del HSV fuera de la secuencia codificante del TK.

SV40

La región SV40 promueve la expresión del gen CAR CD44v6 Δ NL. El promotor SV40 se deriva de la estructura original de LXS_N. Debido a que LXS_N es uno de los plásmidos más utilizados para la preparación de vectores de transferencia para aplicaciones de terapias génicas, el promotor SV40 ha sido usado durante muchos años para la preparación de vectores utilizando células murinas y humanas como sustrato de empaquetado, sin registrar ningún problema de seguridad específico (Miller et al. Biotechniques, 1989).

CAR CD44v6ΔNL (Casucci et al. Frontier Immunol 2018)

Es una proteína de fusión recombinante que incluye:

- i) El fragmento variable de cadena simple (scFv, que representa la región de unión extracelular específica para el antígeno CD44v6 derivado del anticuerpo monoclonal humanizado (mAb) BIWA-8 (Verel et al. Int J Cancer 2002).
- ii) Un espaciador formado por el dominio extracelular del receptor humano del factor de crecimiento nervioso de baja afinidad (Δ LNGFR), que proporciona un enlace flexible entre el scFv el dominio transmembrana. En general permite al dominio de unión de antígenos acomodar diferentes orientaciones y facilitar el reconocimiento de antígenos. Además, este espaciador permite la inmunoselección in vitro y el seguimiento in vivo de las células transducidas mediante los anticuerpos específicos del LNGFR (Casucci et al. Frontier Immunol 2018).
- iii) El dominio transmembrana intracelular de la molécula humana coestimuladora CD28, es esencial para la producción de citoquinas y para la proliferación in vivo de las células T CAR así como para su supervivencia a largo plazo. El dominio transmembrana proporciona un enlace físico entre el espaciador y los dominios señalizadores intracelulares y permite además la selección de células a infundir en pacientes y su seguimiento utilizando anticuerpos específicos (Casucci et al. Frontier Immunol 2018).
- iv) El dominio señalizador intracelular de la cadena CD3 ζ humana es esencial para la activación de la célula T.

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense):

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí No

En caso afirmativo , especifíquese:

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> cADN codificador de HSV-TKMut2
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/> scFv de murina humanizada mAb + todas las otras secuencias son de origen humano
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo *No Relevante*

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar:

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: El ADN que codifica HSV-TK deriva del Virus del Herpes Simplex, clasificado como tipo 2.	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	--	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		

SÍ <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		
c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?		
SÍ <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		
d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?		
SÍ <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese:		

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

La expresión del transgen se analizó después de 6 meses de almacenamiento de las células modificadas a 130°C. Además, los datos indicados en la bibliografía han demostrado que un OMG muy similar (es decir, los linfocitos humanos transducidos con el mismo vector basado en LXS_N codificando a HSV-TK Mut2 y al marcador de la superficie de la célula Δ LNGFR en lugar del CAR (es decir, Zalmoxis, una terapia avanzada a base de células con una autorización de comercialización condicional de la Comisión Europea (EU/1/16/1121)) es genéticamente estable después de 14 años de administración in vivo a los pacientes (Oliveira G, Sci Transl Med. 2015).

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

SÍ <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<input type="checkbox"/>
animales		<input type="checkbox"/>
plantas		<input type="checkbox"/>
otros		<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:
Debido a la naturaleza del producto y a su uso previsto para pacientes específicos

solamente hospitalizados no se espera una liberación del OMG al medioambiente. Sin embargo, en caso necesario es posible detectar la presencia del OMG en el medioambiente mediante el análisis de los genes insertados. Las muestras de células pueden analizarse mediante:

- la expresión de CAR CD44v6 mediante citometría de flujo (FACS) para el espaciador LNGFR;
- la detección de secuencias transgénicas específicas mediante PCR.

Los hisopos con muestras de pacientes o fluidos del paciente pueden analizarse mediante PCR para detectar las secuencias transgénicas específicas.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El OMG puede identificarse mediante el análisis de PCR con los cebadores específicos.

F. Información sobre la liberación

1. Finalidad de la liberación (incluido todo beneficio ambiental potencial significativo esperado)

El propósito de la liberación es únicamente la administración a los pacientes correspondientes.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí No

En caso afirmativo, especifíquese:

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

Limitada al lugar de administración
Hospital Santa Creu i Sant Pau
Servicio de Hematología
Mas Casanovas 90
08041 Barcelona

b) Área del lugar (m²): Tamaño normal de una habitación de hospital

i) lugar real de la liberación (m²): 10 m²

ii) área de liberación más amplia (m²): 18 m²

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

No.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

No.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Dosis indicada de células T MLM-CAR44.1 según peso del paciente hasta un máximo de 2×10^6 células/kg.

b. Duración de la operación:

La administración por paciente dura aproximadamente una hora.

c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

El personal del hospital ha sido instruido detalladamente respecto a las mejores prácticas para el manejo del producto antes y durante la infusión y para el manejo de los desechos.

Lavado de las manos antes y después de la administración con jabón y agua corriente o bien con un adecuado limpiador de manos antiséptico. Para llevar a cabo la administración es necesario llevar una bata de trabajo, guantes, mascarilla y gafas de seguridad para laboratorios. Las células T MLM-CAR44.1 se administran al paciente utilizando válvulas especiales conectadas a un catéter venoso de tal manera que es innecesario el uso de agujas para la infusión. El material utilizado debe ser eliminado de acuerdo a los procedimientos para la eliminación de residuos biológicos.

5. Descripción resumida de las condiciones ambientales medias (clima, temperatura, etc.)

Las condiciones medioambientales normales en las habitaciones de hospital.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

No hay datos disponibles.

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo diana (si procede) *No procede*

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Familia (plantas):

iii)	Género:
iv)	Especie:
v)	Subespecies:
vi)	Cepa:
vii)	Cultivar/Línea de reproducción:
viii)	Patovar:
ix)	Nombre vulgar:

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

El objeto de las células T GMO CD44v6 CAR T es controlar el crecimiento del tumor en los pacientes tratados. En casos de eventos adversos, las células pueden ser eliminadas mediante la administración de GVC.

3. Otras interacciones potencialmente significativas con otros organismos en el medio ambiente

Todos los individuos no sometidos a la terapia con células T MLM-CAR44.1 pero que están potencialmente expuestos a las células T MLM-CAR44.1 pueden considerarse como un organismo no diana. Debido a que las células T MLM-CAR44.1 no se liberan al medioambiente, no hay otros organismos que podrían ser potencialmente organismos no diana.

Es posible que por contacto accidental tenga lugar una transferencia de células T MLM-CAR44.1 hacia individuos no diana. Desde este punto de vista, la administración al paciente es la fase más crítica y el personal involucrado del hospital es el grupo de sujetos potencialmente expuestos. Sin embargo, se prevé que aquellos individuos sanos que han entrado en contacto con las células T MLM-CAR44.1 tanto por un contacto de sangre accidental como también por una exposición de las mucosas, eliminarán las células ya que el sistema inmunológico del individuo reconocería que las células donantes no son propias. La probabilidad que dos individuos tengan un HLA idéntico es extremadamente pequeña. Las personas inmunocomprometidas no están autorizadas para participar en la administración de células T MLM-CAR44.1. Debido a que no se espera que las células T MLM-CAR44.1 contengan partículas libres del vector CAR-CD44v6ΔNL, tampoco se espera que las personas de contacto estén expuestas al vector retroviral de las células T MLM-CAR44.1 durante la administración.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
----	--	------------

Especifíquese:

En el protocolo clínico propuesto las células usadas para la transducción son linfocitos T diferenciados. Aunque estén estimuladas mediante citoquinas para iniciar el ciclo celular, una vez realizada la infusión no es probable que tengan ninguna ventaja para el crecimiento selectivo in vivo. Además, el enfoque terapéutico basado en una estrategia suicida debe limitar en principio el riesgo de un crecimiento descontrolado de las células transducidas, ya que se pueden eliminar administrando GCV.

5. Tipos de ecosistemas a los que puede extenderse el OMG desde el lugar de liberación y en los cuales puede quedar establecido

El OMG no es capaz de sobrevivir fuera del cuerpo y por lo tanto no se espera una diseminación en el medioambiente.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

Todos los individuos no sometidos a terapia con células T MLM-CAR44.1 pero que están potencialmente expuestos a las células T MLM-CAR44.1 pueden considerarse como un organismo no diana. Debido a que las células T MLM-CAR44.1 no se liberan al medioambiente, no hay otros organismos que podrían ser potencialmente organismos no diana.

i) Orden y taxón superior (animales):

ii) Familia (plantas):

iii) Género:

iv) Especie:

v) Subespecie:

vi) Cepa:

vii) Cultivar/línea de reproducción:

viii) Patovar

ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

No hay.

b) De otros organismos al OMG: No hay.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: No hay.

No se espera que las células T MLM-CAR44.1 ni el vector retroviral CAR-CD44v6ΔNL entren en contacto con otros organismos. Se administra únicamente a pacientes hospitalizados. No hay liberación alguna al medioambiente durante la administración de células T MLM-CAR44.1 que podría conducir a un contacto con individuos o poblaciones de otros organismos en general. Durante el proceso de administración, el personal del hospital lleva un equipo de protección y está instruido para este proceso específico. En caso de una exposición accidental a través de heridas por pinchazos de aguja o por exposición de las mucosas, es posible que se inyecte una cantidad mínima de células T MLM-CAR44.1 (una herida por pinchazo de aguja puede ser posible con una aguja contaminada después de la administración). Sin embargo, ya que no está permitida la participación en la administración y tratamiento de los pacientes a los que se les administra el OMG, a personal hospitalario inmunocomprometido; una cantidad mínima de células T MLM-CAR44.1 sería rechazada por el sistema inmunológico de la persona accidentalmente expuesta.

Debido a que no se espera que las células T MLM-CAR44.1 contengan partículas libres del vector CAR-CD44v6ΔNL, el número de partículas retrovirales libres CAR-CD44v6ΔNL a que podría exponerse el personal del hospital por una herida de pinchazo de aguja sería cercana a zero y no puede preverse un efecto causado por tal evento.

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

No hay estudios disponibles sobre este OMG específico que expresa el CD44v6 CAR y el gen suicida HSV-TKMut2 ya que el primer tratamiento en personas está planeado para el próximo año. Sin embargo, ya se ha llevado a cabo estudios con linfocitos humanos genéticamente modificados con vectores retrovirales que codifican CAR o genes HSV-TK. En concreto, los linfocitos genéticamente modificados como este OMG con el vector retroviral basado en LXSN, ya han sido/son utilizados para el desarrollo clínico (fase I/II y fase III) de Zalmoxis, una terapia celular avanzada con autorización de comercialización condicional de la Comisión Europea (EU/1/16/1121). Considerando estos estudios, no se esperan consecuencias negativas para las personas ni para el medioambiente.

9. Posibles interacciones ambientalmente significativas con procesos biogeoquímicos (si son diferentes del organismo receptor o parental)

No hay interacciones conocidas ni previstas en los procesos biogeoquímicos o cualquier otra interacción potencial concebible con el medioambiente.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Las células T CD44v6 CAR se detectarán en las muestras de sangre del paciente mediante PCR en tiempo real y citometría de flujo.

Además, la detección de partículas virales de GaLV+ se lleva a cabo también para valorar cualquier movilización posible de secuencias del vector viral.

El test se llevará a cabo al inicio y a los 3, 6 y 12 meses post-administración. Después se tomarán y guardarán también muestras anualmente durante 5 años. Este diseño está en conformidad con la recomendación descrita en un documento FDA/CBERx (FDA-CBER, 2006).

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Debido a la naturaleza del producto y a su uso previsto para pacientes específicos solamente hospitalizados no se han tomado medidas especiales para monitorear el ecosistema. Sin embargo, en caso necesario es posible monitorear el ecosistema mediante el análisis de los genes insertados. Las muestras de células pueden analizarse mediante:

- la expresión de LNGFR por el análisis FACS;
- la detección de secuencias transgénicas específicas mediante PCR.

Los hisopos con muestras del paciente o fluidos del paciente pueden analizarse mediante PCR para detectar las secuencias transgénicas específicas.

3. Métodos de detección de la transferencia del material genético donado del OMG a otros organismos

No es concebible una transferencia de material genético donante desde el OMG hacia otros organismos. Sin embargo, en caso necesario la expresión constitutiva del gen insertado se analizaría mediante:

- la expresión de LNGFR por análisis FACS
- la detección de secuencias transgénicas específicas mediante PCR
- la sensibilidad del GCV

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No es relevante. El uso previsto del producto es solamente para pacientes específicos hospitalizados.

5. Duración del seguimiento

Se realizará seguimiento a los pacientes tratados durante los cinco años posteriores a la administración.

6. Frecuencia del seguimiento

El seguimiento de los pacientes tratados se realizará al inicio, a los 3, 6 y 12 meses tras la administración y anualmente durante 5 años.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Las células T MLM-CAR44.1 son susceptibles a la desactivación bajo condiciones medioambientales y mediante productos desinfectantes alcohólicos. La superficie que pueda haber estado en contacto con el OMG debe descontaminarse mediante productos desinfectantes, cumpliendo con el tiempo de contacto indicado para la marca específica del producto desinfectante usado.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Desechos sólidos: todo material que ha estado en contacto con el OMG debe manejarse y desecharse como material biopeligroso en contenedores apropiados para desechos biopeligrosos.

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

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Desechos sólidos y líquidos.

3. (b) Tratamiento de residuos

Los desechos se desactivan mediante hipoclorito de sodio. Siempre que sea posible se recogen en contenedores cerrados especiales y se manejan como material potencialmente bioinfeccioso.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

El OMG debe manejarse solamente en zonas restringidas y conforme a procedimientos específicos. Desde este punto de vista la diseminación del OMG en el medioambiente es un evento sumamente improbable, razón por la cual no existen planes de emergencia.

2. Métodos de eliminación del OMG o de los OMG de las áreas potencialmente afectadas

En casos de derrames accidentales sobre superficies:

- Continuar llevando el equipo de protección personal.
- Colocarse un segundo par de guantes.
- Cubrir el material derramado con toallas absorbentes de papel.
- Rocíar/remojar con un producto desinfectante.

- Retirar el material después de 30 minutos de inmersión. Usar pinzas si hay objetos punzantes y desechar estas partes en un contenedor para objetos punzantes. Desechar las toallas de papel y los guantes en una bolsa para desechos.
- Desechar todos los residuos, incluyendo los guantes, como residuos médicos potencialmente infecciosos.
- Desinfectar y lavar las manos con agua y jabón.

En casos de derrame sobre la ropa:

- Retirar toda la ropa contaminada y colocarla en un recipiente para la lavandería.
- Desinfectar las superficies de la piel potencialmente en contacto.
- Retirar los guantes y desecharlos como residuos médicos potencialmente infecciosos.
- Vestirse de nuevo con ropa limpia.
- Cerrar el recipiente con la ropa contaminada y luego lavarla de acuerdo con los procedimientos del hospital para ropa potencialmente contaminada con material bioinfeccioso.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No aplicable.

4. Planes de protección de la salud humana y del medio ambiente en caso de que se produzca un efecto no deseable

No aplicable.