



**BUENAS PRÁCTICAS EN LA EVALUACIÓN DE ASPECTOS RELACIONADOS CON
OMG EN EL CONTEXTO DE ENSAYOS CLÍNICOS CON CÉLULAS HUMANAS
MODIFICADAS GENÉTICAMENTE¹**

Versión 4

Histórico del documento	Fecha	Descripción de los principales cambios
Versión 1	Mayo 2018	
Versión 2	Enero 2020	Eliminación referencia a países que aprueban documento
Versión 3	Diciembre 2020	Adaptación de los requisitos de ausencia/presencia de partículas infecciosas residuales del vector viral en el producto terminado (para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales) e inclusión de requisitos para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores AAV (virus Adeno-asociados).
Versión 4	Septiembre 2021	Inclusión de células humanas modificadas genéticamente sin vectores virales y modificadas por edición genética.

¹ Este documento no ha sido aprobado por la Comisión Europea y, por lo tanto, no contiene la posición oficial de la Comisión Europea.



1. INTRODUCCIÓN

Los ensayos clínicos realizados en la UE con medicamentos en investigación que consistan o contengan organismos modificados genéticamente ("OMG"²) deben cumplir con la legislación que rige la autorización de ensayos clínicos³. El procedimiento de autorización en el marco de los ensayos clínicos tiene como objetivo garantizar los derechos, la seguridad, la dignidad y el bienestar de las personas que participan en un ensayo clínico, así como la fiabilidad y solidez de los datos generados.

Los ensayos clínicos con medicamentos que consisten o contienen un OMG también deben cumplir los requisitos aplicables de la Directiva 2001/18/CE sobre la liberación intencional en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente⁴ ("marco regulatorio de la liberación intencional de OMG"). El marco regulador de OMG tiene como objetivo garantizar un alto nivel de protección para la salud humana y el medio ambiente.

Los recientes descubrimientos en biomedicina han creado la expectativa de que los medicamentos de terapia génica pueden dar respuestas a algunas de las necesidades médicas no cubiertas hoy en día, o proporcionar soluciones novedosas para enfermedades como el cáncer o los trastornos neurodegenerativos. Los medicamentos de terapia génica abarcan una amplia gama de productos con diferentes niveles de riesgos para la salud humana y el medio ambiente. Se ha identificado la necesidad de una orientación sobre la aplicación del marco regulatorio de OMG a células humanas modificadas genéticamente por medio de vectores virales cuando se usan en el contexto de un ensayo clínico. Dicha orientación debería tener en cuenta las características específicas de los medicamentos en investigación en cuestión y los riesgos para la salud pública y el medio ambiente.

Este documento de buenas prácticas ha sido desarrollado conjuntamente por los servicios de la Comisión Europea⁵ y las autoridades competentes de los Estados miembros responsables de la aplicación de la legislación sobre ensayos clínicos y los responsables de la aplicación de la legislación sobre OMG, teniendo en cuenta la experiencia acumulada con este tipo de productos medicinales. El documento se basa en los principios expresados por el Consejo de la Unión Europea sobre políticas de investigación e innovación y, específicamente, en relación con el uso de todas las posibilidades de la legislación existente para facilitar la inversión en investigación e innovación y que para ello, los

² En este documento, debe entenderse que el término "OMG" abarca tanto los organismos modificados genéticamente como se definen en el Artículo 2 (2) de la Directiva 2001/18/ E, como los microorganismos modificados genéticamente en el sentido del Artículo 2 (a) de Directiva 2009/41/CE.

³ Reglamento (UE) n° 536/2014 sobre ensayos clínicos del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de abril de 2014, sobre ensayos clínicos con medicamentos de uso humano y por el que se deroga la Directiva 2001/20/CE (DO L158 de 27.5.2014, p .1). Hasta que el Reglamento entre en vigor, se aplica la Directiva 2001/20/CE (Directiva 2001/20/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 4 de abril de 2001, sobre la aproximación de las disposiciones legales, reglamentarias y administrativas de los Estados miembros relativas a la implementación de buenas prácticas clínicas en la realización de ensayos clínicos sobre medicamentos para uso humano, DO L121, 1.5.2001, p.34).

⁴ Directiva 2001/18/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de marzo de 2001, sobre la liberación en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente y por la que se deroga la Directiva 90/220/CEE del Consejo (DO L 106 de 17.4.2001, p.1).

⁵ Este documento es uno de los resultados del diálogo con las autoridades nacionales competentes para abordar la interacción entre la legislación de OMG y la legislación sobre medicamentos prevista en el Plan de Acción Conjunta sobre MTA de la Comisión Europea-DG Salud y Seguridad Alimentaria y de la Agencia Europea de Medicamentos.



Estados miembros también deberían considerar la posibilidad de revisar sus propios marcos nacionales y la aplicación de la legislación de la UE⁶.

El documento de buenas prácticas se utilizará junto con el formulario común de solicitud desarrollado específicamente para este tipo de medicamento en investigación.

2. Alcance

2.1 Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores virales

Este documento ofrece orientación sobre la implementación de los requisitos reglamentarios en el marco de OMG aplicables a la realización de ensayos clínicos con células humanas modificadas genéticamente⁷ por medio de vectores virales en los casos en que el solicitante demuestre que:

Para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

- (i) no hay riesgo o el riesgo es insignificante, de formación de virus competentes para la replicación de acuerdo con la Sección 3 (1), y
- (ii) Las partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral se han reducido a concentraciones insignificantes en el producto final de acuerdo con la Sección 3 (2) o se pueden asumir un riesgo insignificante de acuerdo con la Sección 3 (3).

Para los fines de este documento, vector retroviral significa vectores gamma-retrovirales murinos. En relación con los vectores lentivirales, este documento se ha desarrollado sobre la base del conocimiento derivado de células humanas transducidas con vectores lentivirales derivados del virus VIH. En el caso de los vectores lentivirales derivados de otros virus, se invita a los solicitantes a realizar una evaluación del riesgo y ponerse en contacto con la autoridad competente correspondiente.

Para células humanas modificadas mediante vectores AAV (virus adeno-asociados)

- (i) no existe o es insignificante el riesgo de formación de virus competente para la replicación de acuerdo con la Sección 3 (1), y
- (ii) cuando se utiliza un virus auxiliar en el sistema de producción, el producto terminado no contiene virus auxiliar residual. Esto puede demostrarse a nivel del vector viral.

Este documento también se aplica cuando se utilizan vectores retrovirales/lentivirales o vectores AAV como vehículo para la transferencia de herramientas de edición del genoma (por ejemplo, combinación de un AAV con CRISPR).

⁶ Conclusiones del Consejo sobre la regulación de la investigación y la innovación, adoptadas por el Consejo en su 3470ª sesión, celebrada el 27 de mayo de 2016.

⁷ Los genes donantes pueden ser de origen diferente (humano, viral, bacteriano, etc.)



2.2 Células humanas modificadas genéticamente sin el uso de vectores virales

Este documento es aplicable a células humanas modificadas genéticamente sin el uso de vectores virales, incluidas las células modificadas por edición genética.

A lo largo de este documento, debe entenderse que el término células humanas modificadas genéticamente incluye también células modificadas por edición genética.

Los requisitos establecidos en este documento son aplicables a los casos en que la realización del ensayo clínico está regulada por el marco legislativo de la liberación intencionada al medio ambiente de OMG y también cuando la realización del ensayo clínico está regulada por el marco legislativo de la utilización confinada de OMG.

Se ha de subrayar que el contenido de este documento (incluida la evaluación específica del riesgo ambiental ("ERA")) no se puede extrapolar a productos distintos de las células humanas modificadas genéticamente referidos en esta Sección 3.

3. Evaluación del riesgo ambiental y requisitos de información

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 virales, 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 infecciosas residuales del vector viral en el producto final que podrían liberarse al medio ambiente (de relevancia en particular para células humanas modificadas genéticamente por medio de vectores retrovirales/lentivirales).

Teniendo esto en cuenta, así como la experiencia acumulada con la evaluación de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores virales, la evaluación de las solicitudes de autorización para la realización de ensayos clínicos con medicamentos en investigación cubiertos por el alcance de este documento debería hacerse sobre la base de la descripción del vector viral utilizado, las pruebas presentadas para demostrar la ausencia de formación de virus competentes para la replicación y - en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales - las pruebas presentadas para demostrar que las partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral se han reducido a concentraciones insignificantes en el medicamento en investigación o, alternativamente, que las cantidades que pueden estar presentes no plantean más que riesgos ambientales insignificantes. A tal efecto, las autoridades competentes responsables de la aplicación de la legislación sobre OMG en Alemania, Austria, Bélgica, Croacia, Chipre, Dinamarca, Eslovenia, Estonia, España, Finlandia, Francia, Grecia, Holanda, Hungría, Irlanda, Italia, Letonia, Lituania, Luxemburgo, Malta, Portugal, Rumanía, República Checa, Suecia y Noruega han acordado un "Formulario común de solicitud" que puede utilizarse para solicitar autorización en el marco legislativo de OMG para la realización del ensayo clínico con medicamentos en investigación cubiertos por el alcance de este documento.

Además, se considera que la realización de ensayos clínicos con los medicamentos en investigación cubiertos por el alcance de este documento no entraña riesgos para la salud pública o el medio



ambiente. Por lo tanto, a los efectos de la evaluación del riesgo ambiental del medicamento en investigación, los solicitantes pueden remitirse al documento “ERA específico” que figura en el anexo de este documento⁸.

3.1 *Demostración de ausencia de formación de virus competentes para la replicación*

El riesgo de recombinación de las partes constituyentes del vector viral entre sí, o con secuencias celulares, que pueden generar un virus competente para la replicación debe minimizarse. En particular, se espera que los solicitantes aborden los siguientes aspectos:

- El sistema de producción se ha diseñado para minimizar la presencia de secuencias necesarias para la formación de virus competentes para la replicación⁹.
- El lote utilizado para la transducción se analiza con un método validado para detectar la presencia de virus competentes para la replicación en la fase de la producción viral¹⁰ o, alternativamente, en el producto terminado (cada lote del producto terminado debe analizarse en casos donde no se lleva a cabo el análisis en la fase de producción viral).

Consideraciones adicionales para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

- La línea celular de producción utilizada no contiene HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV u otros retrovirus/lentivirus relevantes que puedan conducir a la complementación y/o
- La(s) inserción(es) no conducen a la complementación del vector retroviral/lentiviral.

Consideraciones adicionales para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores AAV

- Cuando se utiliza un virus auxiliar en el sistema de producción, el producto terminado no contiene virus auxiliar residual. Esto puede demostrarse a nivel del vector viral.

3.2 *Presencia de partículas infecciosas residuales del vector viral en el producto terminado (para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales).*

Los solicitantes deben demostrar que las partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral se han reducido a concentraciones insignificantes. Esto se puede demostrar por distintos métodos cualitativos o cuantitativos. La fórmula proporcionada en la Tabla 1 puede usarse, pero también son aceptables otros métodos.

Cuando en el producto terminado hay presentes concentraciones más que insignificantes de partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral, los solicitantes deben presentar datos y una

⁸ No se requiere una ERA para las solicitudes presentadas bajo el marco legislativo de la utilización confinada de OMG.

⁹ Los ejemplos actuales son el sistema de autoinactivación (SIN) de 2ª generación, el sistema SIN de 3ª generación y los sistemas translentivirales de 4ª generación.

¹⁰ El método de análisis validado debe tener en cuenta la dosis que realmente se administra al paciente en el ensayo clínico.



evaluación de riesgo complementaria sobre estas partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral de conformidad con la Sección 3 (3).

3.3 Evaluación de riesgos en caso de que en el producto terminado estén presentes partículas infecciosas residuales del vector viral (solo para células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales).

En los casos en los que en el producto terminado estén presentes concentraciones más que insignificantes de partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral, el solicitante debe proporcionar información en el formulario común de solicitud sobre el número estimado de partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral aún presentes en el producto terminado y justificar que su presencia no supone más que un riesgo insignificante para el medio ambiente teniendo en cuenta, en su caso, las medidas de minimización de riesgos que se describan en la Sección 3 del mismo.

4. Requisitos de fabricación y niveles de contención

La fabricación de los medicamentos en investigación cubiertos por el alcance de este documento debe realizarse en las condiciones adecuadas. A tal efecto, la fabricación de los vectores virales y la transducción *ex vivo* de las células humanas con los vectores virales deberían regularse bajo el marco legislativo de la utilización confinada de OMG. Se recuerda que la fabricación de medicamentos en investigación (incluidas las células humanas modificadas genéticamente) debe estar en conformidad con las Normas de Correcta Fabricación¹¹.

El nivel de bioseguridad o grado de confinamiento de estas actividades debe determinarse de acuerdo con las características específicas del vector. Al determinar el nivel de bioseguridad aplicable ("nivel de BSL") se aplican las siguientes consideraciones:

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

- (i) La mayoría de los procesos de fabricación con células que implican sistemas lentivirales (sistemas de segunda y tercera generación y los sistemas translentivirales de cuarta generación) y (retrovirales de ratón) se pueden llevar a cabo en el nivel de bioseguridad BSL-2.
- (ii) La transducción de las células se debe realizar en el nivel de bioseguridad BSL-2.
- (iii) Otras fases de fabricación posteriores a la transducción pueden, sin embargo, realizarse en un nivel de bioseguridad BSL-1, cuando se cumplen todas las condiciones establecidas en la tabla siguiente.

¹¹ https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2017_11_22_guidelines_gmp_for_atmps.pdf



Tabla 1-Criterio para bajar a nivel de bioseguridad BSL-1

Criterios	• Condiciones (cumulativas)
Caracterización molecular de los vectores utilizados	<ul style="list-style-type: none">• Caracterización completa (es decir, secuencia completa) del vector viral utilizado para la transducción celular y caracterización de los elementos críticos en los vectores auxiliares y de empaquetamiento.• Se debe demostrar que no hay desviaciones de las secuencias previstas.
Ausencia de formación de virus competentes para replicación en el sistema de producción viral	<ul style="list-style-type: none">• El sistema de producción está diseñado para minimizar la presencia de secuencias requeridas para la formación de virus con capacidad de replicación ¹².• La línea celular de producción utilizada no debe contener HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV u otros retrovirus/lentivirus relevantes que puedan conducir a la complementación/recombinación con el vector retroviral/lentiviral.• Se analiza con un método validado el lote del vector retroviral/lentiviral utilizado para la transducción para detectar la presencia de virus competentes para la replicación.• La(s) inserción(es) no debe(n) llevar a la complementación del vector retroviral/lentiviral.
Ausencia de virus competentes para la replicación en las células modificadas genéticamente	<ul style="list-style-type: none">• Se excluyen las células de pacientes y donantes VIH y HTLV positivos.• Se analizan las células transducidas para detectar la presencia de retrovirus/lentivirus competentes para la replicación mediante un método validado, a menos que el solicitante proporcione una justificación adecuada (por ejemplo, no se ha demostrado la formación de virus competente para la replicación en la fase de producción viral).
Después de la transducción, las células modificadas genéticamente deben estar libres de partículas virales infecciosas residuales.	<ul style="list-style-type: none">• Las partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral se han reducido a concentraciones insignificantes. Se puede demostrar por distintos métodos cualitativos o cuantitativos.• Los cálculos teóricos presentados por el solicitante son aceptables, siempre que el

¹² Los ejemplos actuales son el sistema de autoinactivación (SIN) de 2ª generación, el sistema SIN de 3ª generación y los sistemas translentivirales de 4ª generación.



	<p>solicitante justifique la base teórica y/o empírica de los parámetros y/o supuestos realizados.</p> <ul style="list-style-type: none">• La fórmula que se describe a continuación¹³ puede aplicarse para determinar la llamada "tasa de reducción" para permitir pasar de un nivel de bioseguridad BSL-2 a BSL-1: <p>Tasas de reducción = $(R1^W \times R2^I \times 2^{FT})/C^i$</p> <p>En esta fórmula: R1 es la reducción de la cantidad de partículas de vector viral por lavado¹⁴ W es el número de pasos de lavado. R2 es la reducción de la cantidad de partículas de vector viral que se logra en los pasos de lavados inactivantes con tripsina¹⁵; esta reducción debe ajustarse en función de la envoltura que se aplica para el seudotipado. I es el número de pasos de lavado inactivantes. T es el tiempo de cultivo en días después de la transducción. F El factor F en la fórmula se basa en la vida media en horas de vectores retrovirales/lentivirales seudotipados específicos y depende de la envoltura que se aplica para el seudotipado y las condiciones de cultivo aplicadas.¹⁶ Cⁱ es el título viral inicial aplicado en el inóculo.</p>
Las secuencias virales en las células modificadas genéticamente no pueden reconstituirse para formar nuevas partículas virales.	<ul style="list-style-type: none">• Las células se cultivan en condiciones para prevenir la (re)infección con lentivirus o retrovirus de otras fuentes durante el cultivo.

Células humanas modificadas mediante vectores AAV

Las actividades de fabricación con celdas modificadas mediante vectores AAV se pueden realizar en condiciones BSL-1 o BSL-2, dependiendo de las circunstancias específicas del caso.

Células humanas modificadas genéticamente sin el uso de un vector viral:

Las actividades de fabricación con células modificadas sin un vector viral se pueden realizar en condiciones BSL-1 o BSL2 dependiendo de circunstancias específicas. Por ejemplo, en el caso de una

¹³ Esta fórmula se basa en una fórmula desarrollada por la Comisión Holandesa de Modificación Genética (COGEM).

¹⁴ El factor de reducción aplicado debe estar respaldado por una explicación y/o datos validados del solicitante.

¹⁵ El factor de reducción aplicado debe estar respaldado por una explicación y/o datos validados del solicitante.

¹⁶ El factor aplicado debe estar respaldado por una explicación y/o datos validados del solicitante.



línea celular establecida, normalmente se consideraría apropiado condiciones BSL-1. Sin embargo, en el caso de células para tratamientos autólogos, si no se pueden excluir los riesgos relacionados con la presencia de virus patógenos, se debe considerar condiciones BSL-2.



ANEXO

EVALUACIÓN DEL RIESGO MEDIOAMBIENTAL (ERA) ESPECÍFICA

1. Alcance

Esta evaluación específica del riesgo ambiental se puede aplicar a los medicamentos en investigación que consisten en células humanas modificadas genéticamente mediante vectores virales que se administran en centros clínicos en el contexto de un ensayo clínico autorizado y cumplen las siguientes condiciones:

- (i) en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales, el solicitante ha demostrado que no existe riesgo de formación de virus con capacidad de replicación y que las partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral se han reducido a concentraciones insignificantes en el producto terminado o, cuando en el producto terminado hay presentes concentraciones más que insignificantes de partículas infecciosas residuales del vector retroviral/lentiviral, el riesgo para el medio ambiente se considera insignificante de acuerdo con la Sección 3 de las Buenas Prácticas¹⁷, y
- (ii) en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores AAV, el solicitante ha demostrado que no existe riesgo de formación de virus con capacidad de replicación.

A lo largo de este documento, el término "medicamento en investigación " se utiliza para referirse a un producto que cumple con las tres condiciones mencionadas anteriormente.

2. Consideraciones generales

Las células humanas no pueden proliferar en el medio ambiente ya que sólo pueden sobrevivir dentro del cuerpo humano o en condiciones de cultivo *in vitro*.

Es muy poco probable que la expresión de los genes donantes altere la supervivencia de las células humanas en el medio ambiente, pero puede alterar el comportamiento celular, por ejemplo, la regulación del ciclo celular, apoptosis, proliferación y supervivencia en condiciones de cultivo *in vitro* o en el cuerpo humano.

De ello se deduce que los riesgos potenciales del uso clínico del medicamento en investigación solo están relacionados, por lo tanto, con la salud humana. Los posibles riesgos para la salud animal o el medio ambiente no son aplicables.

¹⁷ En los casos en que existan concentraciones más que insignificantes de partículas infecciosas residuales del vector viral presentes en el producto terminado, el solicitante deberá realizar la evaluación de los riesgos en el formulario de solicitud común relacionados con la presencia de dichas partículas. Todos los demás aspectos del producto terminado están cubiertos por la ERA específica. En consecuencia, si la presencia de partículas infecciosas residuales del vector viral en el producto terminado no plantea más que un riesgo insignificante para el medio ambiente, los riesgos ambientales del medicamento en investigación en cuestión también pueden considerarse insignificantes.



2.1 Identificación y caracterización de peligros.

No hay riesgos para la salud animal o el medio ambiente.

Posibles peligros para la salud humana

Para las células humanas modificadas genéticamente sin el uso de un vector viral, los peligros potenciales asociados con el uso clínico se consideran insignificantes, considerando que no existe una patología conocida asociada con los vectores no virales.

Peligros relacionados con la persistencia de las células humanas modificadas genéticamente en la población.

El medicamento en investigación se administra a los pacientes con el fin de tratar, prevenir o curar una afección subyacente. La persistencia del medicamento en investigación en el cuerpo del paciente tratado no constituye un riesgo para la salud humana. Sin embargo, aunque es improbable, podría existir un riesgo potencial si hubiera una transferencia involuntaria del medicamento en investigación a personas distintas del paciente diana.

Las células humanas no tienen capacidad de colonización en individuos inmunocompetentes. Incluso si la presencia de la construcción viral integrada o la expresión de la secuencia donante tuvieran una influencia sobre las características fenotípicas de las células modificadas genéticamente, esto no conferiría ninguna ventaja competitiva específica a las células modificadas genéticamente en individuos inmunocompetentes. Por lo tanto, en caso de transferencia accidental del medicamento en investigación a sujetos humanos no diana, las células modificadas genéticamente serían eliminadas por el sistema inmune de un individuo sano.

En caso de transferencia involuntaria (por ejemplo, transferencia accidental al profesional sanitario o error de administración a un paciente diferente) a personas inmunodeficientes, en teoría podrían existir riesgos potenciales. Las posibles consecuencias de una transferencia accidental dependerán de los efectos de la construcción viral (integrada en el cromosoma o como un concatémoro episomal) y del gen donante expresado en el fenotipo de la célula diana.

Peligros asociados con la recombinación del vector viral con virus o la movilización de la secuencia del vector viral integrada.

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

Los posibles riesgos podrían ocurrir si hubiera movilización o recombinación de la construcción retroviral o lentiviral integrada tras la infección de las células trasplantadas con VIH o retrovirus en pacientes con una infección activa. Otro escenario de riesgo potencial sería la recombinación de genes donantes de origen viral, presentes en la construcción retroviral o lentiviral integrada, con virus endógenos relacionados, tras la infección de las células trasplantadas con un virus altamente relacionado, lo que daría lugar a la creación de un nuevo virus modificado genéticamente (siempre que la recombinación permita la replicación de las secuencias recombinadas).



Las posibles consecuencias de un evento de este tipo dependerán de las características del nuevo virus modificado genéticamente, pero podrían dar lugar a efectos nocivos en terceros en caso de transmisión horizontal.

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores AAV

Los posibles riesgos podrían ocurrir si hubiera movilización o recombinación de la construcción viral tras la infección de las células transducidas en pacientes con una infección activa por AAV de tipo silvestre y coinfección con un virus auxiliar de AAV. El producto recombinado sería un AAV. Teniendo en cuenta que no existe una patología conocida asociada a los AAV y que no hay ningún inserto peligroso presente en el vector clínico, los peligros asociados con la liberación de los vectores AAV competentes para la replicación pueden considerarse muy bajos.

2.2 Caracterización de la exposición

Probabilidad de efectos adversos relacionados con la persistencia de células humanas modificadas genéticamente en la población.

Se pueden prever tres posibles escenarios¹⁸:

- (1) Transferencia accidental a individuos inmunodeficientes: Un posible escenario de transferencia accidental a terceros sería en caso de un accidente con agujas durante la administración. En tal caso, podría tener lugar la transferencia de las células modificadas genéticamente al receptor accidental del producto. Sin embargo, esto sólo conduciría a la persistencia en caso de una inmunodeficiencia del receptor accidental del producto, ya que la probabilidad de que tanto el paciente como la persona accidentalmente inyectada tengan los mismos haplotipos MHC es insignificante.

Mientras que las células humanas transducidas pueden persistir en el cuerpo humano de un individuo inmunodeficiente y esta persistencia puede ser duradera, dependiendo de las características de estas células, la probabilidad de un efecto nocivo en caso de transferencia accidental se considera insignificante dada (1) la ausencia de partículas virales competentes para replicación-en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales- y la presencia despreciable de partículas virales infecciosas residuales en el producto terminado, (2) el bajo número de células que se introducirían en el caso de una transferencia accidental y (3) la ausencia de régimen de pre-acondicionamiento en el receptor accidental de las células.

- (2) Administración errónea a un paciente diferente. Como en el escenario anterior, las células transducidas solo persistirían si el paciente que recibió el medicamento en investigación debido a un error de administración fuera inmunodeficiente.

La probabilidad de efectos perjudiciales en este escenario es baja dada la ausencia de partículas virales competentes para la replicación y- en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales- y la presencia

¹⁸ El escenario de contaminación a través del medio ambiente (sangrado del paciente) no se considera realista dado que las células no pueden sobrevivir fuera del cuerpo humano.



despreciable de partículas virales infecciosas residuales en el producto terminado. Además, es extremadamente improbable que el receptor accidental en este escenario hubiera estado sujeto a un régimen de pre-acondicionamiento que facilitaría la supervivencia a largo plazo de las células transducidas.

- (3) Donación de sangre, células, tejidos u órganos a terceros inmunodeficientes. Un posible escenario de transferencia a terceros sería en caso de transfusión de sangre o trasplante de células, tejidos u órganos de un donante que haya sido tratado con el medicamento en investigación.

Si las células transducidas de un paciente tratado con el medicamento en investigación se transfieren a un tercero mediante donación, la probabilidad de un efecto nocivo se considera baja dada la ausencia de partículas virales competentes para la replicación y- en el caso de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales- la presencia despreciable de partículas virales infecciosas residuales en el producto terminado. Además, el medicamento en investigación a menudo se administra para tratar afecciones que, de facto, implican la no elegibilidad del paciente como futuro donante¹⁹. En tales casos, la probabilidad de un efecto nocivo es insignificante.

Probabilidad de recombinación del vector viral con virus o de movilización de la secuencia del vector viral integrada.

La recombinación del vector viral con otro virus o la movilización de la secuencia viral integrada generalmente se considera improbable debido a la estructura deficiente de los vectores comúnmente utilizados para la fabricación de medicamentos de terapia génica.

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

En relación con el escenario de movilización de la secuencia del vector lentiviral o retroviral integrada tras la infección de las células del donante en el cuerpo del paciente con VIH, HTLV o retrovirus endógenos, se recalca que, aunque se ha identificado la posibilidad de movilización y recombinación en condiciones *in vitro*, nunca se ha observado en los ensayos clínicos realizados en los últimos 20 años, incluso en los ensayos clínicos con pacientes con VIH.

¹⁹ Los criterios de elegibilidad para los donantes de sangre y componentes sanguíneos se establecen en el anexo III de la Directiva 2004/33/CE por la que se aplica la Directiva 2002/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a determinados requisitos técnicos para sangre y componentes sanguíneos (DO L91, 30.3.2004, p.25), en su versión modificada.

Los criterios de selección para donantes de tejidos y células se establecen en el anexo I de la Directiva 2006/17/CE de la Comisión, de 8 de febrero de 2006, por la que se aplica la Directiva 2004/23/CE del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que respecta a determinados requisitos técnicos para la donación, obtención y ensayo de tejidos y células humanos (DO L38 de 9.2.2006, p.40), en su versión modificada.

Los criterios de caracterización de órganos y donantes para órganos se establecen en el anexo de la Directiva 2010/45/UE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre normas de calidad y seguridad de los órganos humanos destinados a trasplante (DO L 207 de 6.8.2010, p. 14).



La probabilidad de movilización de la secuencia del vector lentiviral o retroviral integrada tras la infección de las células del donante en el cuerpo del paciente con VIH, HTLV o retrovirus endógenos se considera insignificante por las siguientes razones:

- En el caso de vectores lentivirales, su naturaleza defectuosa para la replicación impide la posibilidad de movilización espontánea del vector integrado en las células transducidas a menos que se proporcionen funciones auxiliares a las células transducidas mediante la superinfección con virus de tipo salvaje en un huésped infectado. La característica de autoinactivación (SIN) del LTR impide la movilización del vector incluso en el caso de superinfección de la célula transducida por un virus de tipo salvaje.
- En el caso de los vectores gamma retrovirales, un evento de recombinación también es altamente improbable considerando que, en principio, los retrovirus murinos no infectan a los humanos. El riesgo de que el provirus o vector libre se movilice mediante recombinación entre el genoma del vector integrado y las secuencias genéticas de retrovirus potencialmente coinfectantes es un riesgo muy teórico. No se han encontrado virus gamma retrovirales infecciosos exógenos en humanos y no se esperaría que la recombinación entre secuencias del vector y retrovirus co-infecciosos no gamma-retrovirales produjera un RCR. Para que un provirus se convierta en un RCR necesitaría obtener secuencias heterólogas que codifiquen para las proteínas gag-pol y env de otras fuentes dentro de la misma célula que el provirus. No se conocen gamma-retrovirus exógenos en poblaciones humanas que puedan introducir secuencias funcionales que codifiquen gag-pol y env en células transducidas.

Células humanas modificadas mediante vectores AAV

El único mecanismo por el que podría producirse la recombinación seguida de movilización es mediante la infección simultánea de la célula con el vector clínico, el virus AAV de tipo silvestre y un virus auxiliar (triple infección), que se considera un evento poco probable.

2.3 Caracterización del riesgo

Riesgo asociado a la persistencia de células humanas modificadas genéticamente en la población.

Los únicos riesgos posibles están asociados con la transferencia involuntaria de células del donante a individuos inmunodeficientes en tres escenarios posibles:

- (1) Transferencia accidental a personas inmunodeficientes: Por las razones explicadas anteriormente, la magnitud de los efectos adversos vinculados a la transferencia accidental del medicamento en investigación a individuos inmunodeficientes es insignificante. Además, el medicamento en investigación es administrado por profesionales capacitados en un entorno altamente controlado, lo que minimiza la probabilidad de que se produzcan transferencias accidentales durante la administración/manipulación del producto. Además, la probabilidad de que ocurra un accidente durante la administración/manejo del producto, y que el profesional de la salud afectado también sea inmunodeficiente, se considera extremadamente bajo. Por lo



tanto, se puede concluir que el riesgo asociado con la persistencia de las células modificadas genéticamente en el escenario de transferencia accidental es insignificante.

- (2) Administración errónea a un paciente no intencionado. Por las razones explicadas anteriormente, la magnitud de los efectos adversos vinculados a la transferencia accidental del medicamento en investigación a individuos inmunodeficientes es baja. Además, la administración a los pacientes del medicamento en investigación se lleva a cabo por personal capacitado en un entorno altamente controlado que incluye requisitos estrictos de etiquetado y trazabilidad para evitar errores de administración. Se deduce que los riesgos para las personas inmunodeficientes en el escenario de la transferencia accidental son insignificantes.
- (3) Donación de sangre, células, tejidos u órganos a terceras personas inmunodeficientes: Como se explicó anteriormente, la probabilidad de efectos adversos vinculados a la transferencia accidental del medicamento en investigación a individuos inmunodeficientes es baja. En los casos en que las células humanas modificadas genéticamente estén destinadas a tratar afecciones que descalifican al paciente como posible donante, los riesgos para las personas inmunodeficientes a través de transfusión/trasplante son insignificantes. En otros casos, el solicitante debe considerar si se debe evitar que los pacientes donen sangre/células/tejidos/órganos después de que se les administren las células humanas modificadas genéticamente.

Riesgos asociados con la recombinación o movilización de secuencia viral integrada.

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores retrovirales/lentivirales

Los únicos riesgos posibles están asociados con la movilización de secuencias lentivirales integradas tras la infección activa de las células del donante con VIH o HTLV.

Como se explicó anteriormente, la probabilidad de movilización o recombinación del vector viral con otros virus es despreciable. Por lo tanto, los riesgos para la población humana serían insignificantes.

Células humanas modificadas genéticamente mediante vectores AAV

En el improbable escenario de que las células transducidas por el vector se infectaran simultáneamente por el virus AAV de tipo silvestre y un virus auxiliar adecuado, el resultado esperado es la producción de un AAV de tipo silvestre y más partículas de vector, que no podrían replicarse ya que aún carecerían de los genes *rep* y *cap*. Por tanto, los riesgos para la población humana serían insignificantes.

2.4 Estrategias de gestión del riesgo

El solicitante debe considerar si se debe evitar que los pacientes donen sangre/células/tejidos/órganos después de que se les administre el medicamento en investigación. En el caso de solicitudes de autorización en Estados miembros que aplican el formulario común de solicitud, esta información debe exponerse en la Sección 3 de dicho formulario.

Se deben implementar medidas adecuadas para prevenir los riesgos de transferencia accidental a profesionales de la salud involucrados en el manejo/administración del producto durante la



administración. Para las solicitudes de autorización en Estados miembros que aplican el formulario común de solicitud, esta información debe exponerse en la Sección 3 de dicho formulario.

Deben existir medidas adecuadas para el almacenamiento, el transporte y el tratamiento de desechos. Para las solicitudes de autorización en Estados miembros que aplican el formulario común de solicitud, esta información debe exponerse en la Sección 3 de dicho formulario.

2.5 Determinación del riesgo global y conclusiones

No se pueden identificar riesgos para el medio ambiente o la salud de los animales. Siempre que se implementen las medidas de control descritas por el solicitante (en el caso de remisiones en Estados miembros que aplican el formulario común de solicitud, las medidas de control se describen en la Sección 3), los riesgos generales para la salud humana se consideran insignificantes.