



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

Título del ensayo

Estudio fase 2 de la infusión de linfocitos T diferenciados autólogos de sangre periférica expandidos y transducidos con un lentivirus para expresar un receptor antigénico quimérico con especificidad anti-CD19 (A3B1) conjugado con las regiones coestimuladoras 4-1BB y CD3z (células ARI-0001) en niños y adolescentes de 0 a 18 años con leucemia linfoblástica aguda CD19+ resistente o refractaria a tratamiento, del promotor Fundació privada per a la Recerca i la docència Sant Joan de Déu (FSJD).

Características del organismo modificado genéticamente

El OMG, ARI-0001, se ha utilizado en el ensayo con número de notificación B/ES/17/08.

ARI-0001 consiste en linfocitos T de pacientes entre 0 y 18 años con leucemia linfoblástica aguda refractaria/recaída transducidos con un vector lentiviral auto-inactivante para expresar el receptor quimérico sintético con especificidad anti-CD19 (A3B1), conjugado con el dominio coestimulador 4-1BB y con el dominio de señalización CD3ζ.

El vector lentiviral (pCCL-cPPT-A3B1:4-1BB:CD3ζ::wPRE), es un vector basado en el lentivirus VIH-1.

El vector lentiviral utilizado es de tercera generación (se utilizan 4 plásmidos para su producción lo que aumenta su seguridad), mejorados (contienen secuencias que mejoran su expresión como cPPT, tracto central de polipurina, y wPRE*, elemento post-regulador mutado del virus de hepatitis de marmota) y autoinactivantes (deleciones en la LTR por lo que una vez integradas no son activas).

El vector está basado en el lentivirus HIV-1 al cual se le han eliminado los genes accesorios y también alguno regulador y está pseudotipado con una envuelta de virus de la estomatitis vesicular VSV.

El vector viral se produce mediante cotransfección de 4 plásmidos en células HEK/293T: vector de transferencia, vector empaquetador (que contiene los genes *rev* y *gag-pol*) y el vector que contiene la secuencia para la envuelta de VSV.

Características del ensayo

El medicamento en investigación se administrará por vía intravenosa. En el ensayo participarán el Hospital Sant Joan de Déu, el Hospital Niño Jesús, el Hospital La Paz, el Hospital Virgen del Rocío y el Hospital Vall d'Hebrón. Los pacientes serán sometidos a seguimiento 2 veces por semana (las primeras dos semanas), luego semanalmente hasta los dos meses y luego cada dos semanas hasta los 3 meses (d+100). Luego, mensualmente hasta los 6 meses y a partir de los 6 meses cada 3 hasta al menos un año. Tras la administración del OMG se tomarán muestras de sangre coincidiendo con la visita de selección, día +7, +14, +21, +28 y día +100 y de médula ósea en el día +28, a los 100 días.

Evaluación del riesgo. Identificación de riesgos potenciales.

-Presencia de partículas virales libres

Para demostrar que las partículas retrovirales/lentivirales residuales infecciosas se han reducido a concentraciones insignificantes se calcula la "tasa de reducción" teniendo en cuenta el título viral



inicial, el número de lavados y lavados inactivantes y tiempo de cultivo de acuerdo con las recomendaciones del documento de [Buenas Prácticas sobre la evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas modificadas genéticamente](#) obteniéndose un resultado superior a 100 lo que indica que el riesgo de partículas víricas libres en el producto final es insignificante.

-Capacidad de transferencia génica debido a la formación de lentivirus competentes para la replicación (RCL)

Los lentivirus son infectivos, pero no replicativos porque no contienen las secuencias requeridas para la formación de RCL.

Además, para incrementar el nivel de seguridad, la información para generar partículas lentivirales ha sido fragmentada en diferentes vectores y la línea celular de producción utilizada (células HEK/293T) no contiene HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV u otros lentivirus relevantes que puedan conducir a la complementación y/o recombinación del vector lentiviral.

Para demostrar la ausencia de RCL durante la producción viral y en el OMG, en cada producto obtenido (único para cada paciente y autólogo) y previo a la liberación del mismo, se extrae una alícuota de las células transducidas (OMG) antes de formularlas con el DMSO para su criopreservación. En esta alícuota, se confirma mediante una PCR cuantitativa la ausencia de RCL utilizando oligonucleótidos específicos para el gen VSV-G. Los resultados obtenidos en distintos lotes se encuentran por debajo del límite máximo aceptable (10 copias).

Manipulación, control y tratamiento de residuos

El OMG no es capaz de sobrevivir en el medio ambiente fuera de las condiciones de cultivo específicas (37°C, 5% CO₂, medio de cultivo enriquecido con suero humano; o el cuerpo humano del paciente).

El promotor proporciona a los centros un documento con instrucciones de seguridad. Se aplicarán medidas de bioseguridad para riesgo tipo 2.

El personal sanitario implicado en el manejo y la administración del producto llevará pijama de un solo uso, guantes y calzado de sala.

El transporte interno del OMG se realizará en recipiente hermético y resistente a roturas para evitar derrames accidentales.

El personal implicado en el manejo y la administración del OMG solamente podrían entrar en contacto con el OMG en el caso accidental de que el kit o la bolsa contenedora del OMG se rompieran y contactaran con una parte del usuario no protegida, algo muy poco probable. En caso accidental de contacto el trabajador deberá lavar la zona de la piel con agua abundante y jabón. En caso de rotura accidental, se señalará la zona para alertar a los usuarios y se lavarán las superficies siguiendo las instrucciones suministradas por el promotor.

Las muestras biológicas que se obtienen en un entorno hospitalario, incluidas las de pacientes que han recibido ARI-0001, son tratadas como potencialmente infectivas. El personal implicado en el transporte y manipulación debe hacerlo conforme a los procedimientos de su centro para material potencialmente infectivo.

Todo material que está en contacto con el medicamento en investigación que contiene el OMG es un residuo de categoría III, de riesgo biológico.



En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB) y al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG).

CONCLUSIÓN: Se considera que en el estado actual de conocimientos y con las medidas de uso propuestas, este ensayo clínico no supone un riesgo significativo para la salud humana, la salud animal y/o el medio ambiente.

Una vez concluido el ensayo, se remitirá un informe de resultados del mismo al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB), siguiendo el modelo de informe de resultados elaborado por la CNB, que se encuentra disponible en la [web del MITECO](#). En este informe se deberá incluir información sobre las posibles incidencias, si las hubiera. La remisión de esta información será condición indispensable para la concesión de futuras autorizaciones de ensayos con organismos modificados genéticamente.

Madrid a 21 de noviembre de 2022