

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/19/21
Fecha del acuse de recibo de la notificación:	11 de octubre de 2019
Título del proyecto:	Estudio en fase I de aumento gradual de la dosis para evaluar la seguridad y la eficacia de ADP-A2M4CD8 en pacientes HLA-A2+ con tumores con expresión de MAGE-A4
Período propuesto para la liberación:	Desde Diciembre de 2019 hasta Enero de 2022.
Se prevé que el estudio en España se inicie en diciembre de 2019 y termine en enero de 2022. Estas fechas son aproximadas. Consulte el protocolo para más información sobre el calendario de evaluaciones del tratamiento y los períodos de seguimiento a largo plazo, aproximadamente 27 meses en España.	

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa: Adaptimmune LLC 351 Rouse Blvd. Philadelphia, PA 19112 – USA
--

3. Definición del OMG

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"/>	Linfocitos T humanos
- insectos	<input type="checkbox"/>	
- peces	<input type="checkbox"/>	
- otro animal	<input checked="" type="checkbox"/>	
especifique el phylum y la clase:		Cordados (vertebrados)
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)		

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Homo; Especie: H. sapiens (linfocitos humanos genéticamente modificados)

El producto en investigación (PEI), ADP-A2M4, consiste en linfocitos T autólogos positivos para CD4 y CD8, transducidos con un vector lentiviral autoinactivante (SIN) que expresa un receptor de linfocitos T (TCR) específico con afinidad aumentada por MAGE-A4.

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

Si, estable. El vector vírico no tiene capacidad replicativa y el transgén del TCR se integra de forma estable en los linfocitos T transducidos, que no pueden sobrevivir fuera del cuerpo humano.

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: BE	

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 checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: **EEUU y Canadá**
- Número de la notificación: **N/A**

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

El producto en investigación son linfocitos T autólogos del paciente para infusión intravenosa directamente al mismo paciente que ha donado los linfocitos. En el caso improbable de que se expongan los linfocitos al medio ambiente, por ejemplo, que se salgan del envase de forma accidental, perderían viabilidad rápidamente.

Es posible que el producto a base de linfocitos T modificados genéticamente en investigación entre en contacto con otras personas en el centro/hospital propuesto en España aparte de los pacientes. Por ejemplo, este contacto podría tener lugar si los profesionales sanitarios o los médicos se lesionan accidentalmente con una aguja, o si se exponen al producto después de haberlo vertido o durante la eliminación de residuos.

Las lesiones producidas accidentalmente con una aguja pueden producirse en cualquier procedimiento en el que se utilice una aguja para la infusión de un medicamento; en el entorno clínico, este riesgo se reduce al permitir el acceso a ADP-A2M4 solo a profesionales sanitarios que han recibido la formación adecuada y que toman las medidas de seguridad necesarias para prevenir tales lesiones (por ej., procedimientos de seguridad, vestimenta protectora...). Los profesionales sanitarios que atiendan a los pacientes del ensayo clínico seguirán los procedimientos “de precauciones universales” usados en la manipulación de cualquier producto hemoderivado humano. En dichos procedimientos universales, la sangre y el resto de fluidos corporales se tratan como potencialmente infecciosos y se requiere el uso de protección individual.

Debido a que el producto deja de ser viable rápidamente fuera del cultivo celular, el contacto con el producto en investigación mediante la piel o cualquier otro órgano sensorial después de haberlo vertido o durante la eliminación de residuos no representa un riesgo manifiesto. Incluso en el caso de que los linfocitos transducidos conservaran su viabilidad durante varias horas, deberían administrarse mediante una infusión intravenosa para que se produjera algún acontecimiento adverso que pudiera guardar relación con la modificación genética. Si no, los riesgos serían similares a los de la exposición a un producto hemoderivado no modificado genéticamente.

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

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos Linfocitos T de *Homo Sapiens*

- insectos

- peces

- otro animal

(especifique el phylum y la clase): **Cordados (vertebrados)**

Otros, (especifíquense):

2. Nombre No aplica

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

3. Distribución geográfica del organismo: No aplica

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

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

4. Hábitat natural del organismo: No aplica, ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente en condiciones in vitro muy limitadas con presencia de citocinas o en el organismo humano.

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:

5. a) Técnicas de detección:

No aplica

5. b) Técnicas de identificación:

Los linfocitos humanos se pueden identificar respecto a la expresión de marcadores específicos de estirpe, como CD3, por inmunofluorescencia, usando un anticuerpo específico, o mediante citometría de flujo

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. No aplica		

8. Información sobre reproducción **No aplica**

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: No aplica		

9. Capacidad de supervivencia: **No aplica** para este producto, ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente en el organismo humano o en condiciones in vitro muy limitadas con presencia de citocinas.

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) | <input type="checkbox"/> |

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia **No aplica**

10. a) Vías de diseminación:

No aplica para este producto, ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente en el organismo humano o en condiciones in vitro muy limitadas con presencia de citocinas.

10. b) Factores que afectan a la diseminación:

No aplica para este producto, ya que los linfocitos humanos pueden sobrevivir únicamente en el organismo humano o en condiciones in vitro muy limitadas con presencia de citocinas.

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 aplica

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) | <input type="checkbox"/> |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado deseado de la modificación genética es que los linfocitos T del paciente expresen un receptor de linfocitos T (TCR) con afinidad incrementada. Como

parte del sistema de vigilancia inmunitaria natural, los linfocitos T de las personas poseen TCR que reconocen los péptidos derivados de las proteínas intracelulares, que se presentan en los HLA. Como protección ante las enfermedades autoinmunitarias, los TCR naturales poseen una afinidad reducida por los péptidos derivados de las proteínas propias y, por tanto, su respuesta ante los antígenos del cáncer es reducida. La modificación genética introduce un TCR con afinidad aumentada en los linfocitos T para que reconozcan y respondan al péptido MAGE-A4, producido específicamente por una célula cancerosa.

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 vector de transferencia es un vector lentivírico autoinactivante sin capacidad replicativa.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Células de mamífero	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

e) Fragmentos constituyentes del vector :

El vector lentiviral expresa el transgén del TCR CD8 α _MAGE-A4 que reconoce el antígeno peptídico MAGE-A4 «GVYDGREHTV» para su expresión en los linfocitos T diana.

El plásmido de transferencia utilizado para obtener el vector lentiviral se denomina pELNS CD8 α _MAGE-A4-c1032.

Los linfocitos T transducidos con el vector lentiviral (VL) CD8 α _MAGE A4 c1032 están diseñados para dirigirse al antígeno MAGE A4 del tejido tumoral, al tiempo que coexpresan el correceptor natural CD8 α . No se ha modificado la secuencia genética del correceptor CD8 α .

El vector de transferencia es un vector autoinactivante (SIN) derivado del VIH, que comprende una LTR 5' y una 3' U3 LTR eliminada. La transcripción del transgén está determinada por el promotor mamífero ef-1 α .

Para expresar el CD8 α , además de las cadenas α y β del gen del TCR de nuestro plásmido de transferencia, hemos utilizado factores de escisión 2A de autoescisión, que derivan del virus de la fiebre aftosa y del picornavirus.

Los factores de escisión generan una poliproteína que «se autoescinde» por medio de un mecanismo que evita los ribosomas y da como resultado tres proteínas predecibles por estequiometría. Dado que el mecanismo es un factor que evita los ribosomas, la expresión de ARNm con 2A no genera poliproteínas no escindidas en la célula.

Se puede obtener una eficiencia mejorada de la escisión mediante la inclusión del conector adecuado entre la proteína y el factor de escisión; con números de copias bajos, el factor de escisión parece ser más eficiente que el punto de entrada interno del ribosoma (IRES) para la expresión de productos con dos genes. El vector también contiene el tracto de polipurina central y la secuencia de terminación central (cppt/CTS) para una mayor eficiencia de la transducción, el elemento de respuesta de rev (RRE) para el transporte de ARN y la secuencia de empaquetamiento.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección

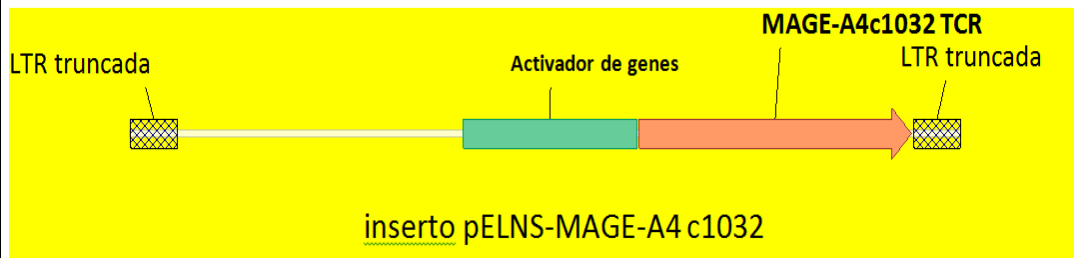
vi) otros, (especifíquense) **Transducción (*ex-vivo*)**

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

- i) transformación
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- 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:

El vector lentiviral inserta el transgén del TCR que contiene el transgén del TCR MAGE-A4 c1032 y la secuencia CD8 α natural para la expresión en los linfocitos T diana; se describe de forma esquemática en la anterior imagen.

Los genes α y β del TCR proceden de Adaptimmune y están separados del factor de escisión del picornavirus 2A, derivado de la secuencia publicada por un conector Gly-Ser-Gly añadido entre la proteína NH2 terminal y el péptido 2A para mejorar la eficiencia de la escisión (Szymczak 2004). El gen CD8 α precede al gen de la cadena α del TCR y está separado por una secuencia de 2A. El vector lentiviral también contiene el cppt/CTS (Sirven 2000) para mejorar la eficiencia de la transducción, el elemento de respuesta de rev (RRE) para el transporte de ARN y la secuencia de empaquetamiento de psi.

El CD8 α ha sido clonado a partir de un fragmento de PCR que contiene CD8 α , que fue amplificado a partir de un plásmido «in-house» preexistente (ADB508) que codifica CD8 α y el péptido F2A, en el marco de una secuencia de TCR «in-house».

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG:

El activador de genes genera la expresión del receptor CD8 α y del transgén MAGE-A4 c1032 TCR en los linfocitos T objetivo. El transgén MAGE-A4 c1032 TCR es un TCR específico de MAGE-A4 con gran afinidad para el tratamiento

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros (especificíquense): Linfocitos T de *Homo Sapiens*

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 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 completo No aplica

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

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:

La presencia y la persistencia de linfocitos T transducidos (modificados genéticamente que contienen el receptor de linfocitos T) se analiza mediante una prueba de reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) de alta sensibilidad que detecta el número de copias de ADN de Psi (consulte la respuesta 6B). La presencia de la secuencia de ADN de Psi se correspondería con la presencia del OMG, ya que esta secuencia está presente en el OMG.

Los linfocitos transducidos no serán viables fuera del huésped, por lo que es poco probable algún efecto sobre el medio ambiente en caso de diseminación. No obstante, la presencia de la secuencia de ADN de Psi se correspondería con la presencia del OMG.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: **Se someterá a los pacientes a pruebas analíticas en sangre de manera regular. Se usarán muestras de células mononucleares sanguíneas periféricas (CMSP) para cuantificar la secuencia de ADN de Psi e indicar la presencia del OMG. Esta prueba también se utiliza para cuantificar la persistencia relativa del OMG en los sujetos que han recibido la infusión.**

F. Información sobre la liberación

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

El objetivo de la liberación es evaluar la seguridad y la tolerabilidad de los linfocitos T autólogos modificados genéticamente (ADP-A2M4CD8) en pacientes elegibles con diversos tipos de tumores. El organismo huésped son los linfocitos T humanos (del paciente); el inserto se integra ex vivo en los linfocitos T del huésped, que se infunden de nuevo al paciente. No se espera ningún beneficio para el entorno.

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 <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
-----------------------------	--

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): **Participarán 3 centros en Madrid:**
- **Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, Av. Reyes Católicos, 2, 28040 Madrid**
 - **Hospital Universitario HM Sanchinarro. Calle Oña, 10. 28050 Madrid**
 - **Hospital Universitario 12 de Octubre. Avda. de Cordoba, s/n. 28041 Madrid**
- b) Área del lugar (m²): **No aplica**
- i) lugar real de la liberación (m²):
- ii) área de liberación más amplia (m²):
- c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: **No aplica**
- d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: **No aplica**

4. Método y amplitud de la liberación

- a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:
- El producto en investigación se administrará a una dosis de $1,0 \times 10^9$ a 10×10^9 linfocitos transducidos mediante una única infusión intravenosa. Se prevé que participen aproximadamente 6 pacientes en los tres (3) centros de España.**
- b. Duración de la operación:
- Se prevé que el ensayo clínico se inicie en España aproximadamente en diciembre de 2019 y que termine entre febrero y mayo de 2021. No se puede facilitar el momento de administración exacto del producto en investigación, ya que depende de la identificación de pacientes elegibles y de su situación clínica. Se espera que haya 2-3 pacientes elegibles por centro para recibir el producto en investigación durante este periodo.**
- c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:
- El promotor proporcionará formación sobre el estudio a todos los centros, incluyendo la recepción, el almacenamiento y la manipulación del producto de linfocitos T. El promotor también proporcionará al centro un manual de aféresis y del producto de linfocitos T.**

El vector lentivírico MAG-E-A4 se ha diseñado para ser incompetente para replicación. La tercera generación de sistemas de vectores lentivíricos basados en VIH1 se ha diseñado para ser más segura que las generaciones de vectores lentivíricos anteriores gracias a dos características principales del diseño: 1. el vector es incompetente para replicación y no puede propagarse en células, tejidos u organismos no diana, y 2. la inserción génica es autoinactivante y se integra de forma estable en el genoma. Para garantizar la incompetencia para replicación, los genes de empaquetamiento se separan en tres plásmidos: uno que codifica la proteína Rev, uno que codifica la poliproteína gag-pol y otro que codifica la proteína de la envoltura del vector no VIH-1 (por ej., VSV-G). El vector lentiviral MAG-E-A4 (sobrenadante durante fabricación y en el producto final) se analiza para determinar la presencia de virus competentes para la replicación mediante ensayo de infectividad y captura de antígeno p24 VIH-1 como parte de las pruebas para la liberación de producto.

El producto de células T ADP-A2M4, que consiste en linfocitos T modificados genéticamente mediante transducción ex vivo, se analiza para determinar la presencia de la proteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G) a través de la reacción en cadena de la polimerasa cualitativa (qPCR) como parte de los análisis para la liberación del medicamento en investigación. El resultado de la prueba del virus de la estomatitis vesicular G (VSV-G) sirve como una prueba sustituta para la replicación de pruebas lentivirus competentes.

El producto a base de linfocitos T congelado se envía a la persona responsable del centro por medio de un transportista especializado en contenedores CryoShipper validados. El producto va congelado en bolsas y se manipulará con un equipo de protección personal (EPP) apropiado. El producto se retira del contenedor y se transfiere a un almacenamiento en nitrógeno líquido hasta el momento de la infusión.

Cuando el paciente esté listo para la infusión, el producto a base de linfocitos T congelado se extraerá del almacenamiento en nitrógeno líquido y se transferirá en un contenedor hermético a pie de cama del paciente. Para mantener la cadena de custodia, el personal clínico con la formación pertinente transportará el producto a base de linfocitos T congelado hasta el paciente.

El producto a base de linfocitos T se descongelará al baño María a pie de cama del paciente o en unas instalaciones centralizadas, según los procedimientos institucionales habituales sobre hemoderivados congelados. Una vez descongelado, el producto a base de linfocitos T se infundirá al paciente.

No se esperan más peligros que aquellos que se presentan al administrar hemoderivados celulares y manipular las muestras de sangre del paciente. Se usarán guantes y batas según los procedimientos locales estándar para la manipulación de hemoderivados o productos celulares congelados.

Todos los materiales que entren en contacto con el producto a base de linfocitos T (como objetos de plástico, agujas, guantes, gasas, discos de algodón, etc.) se tratarán como residuos clínicos y se incinerarán.

La limpieza de la habitación tras la infusión de linfocitos T seguirá los procedimientos habituales del hospital sobre hemoderivados. No se requieren medidas de limpieza ni desinfección especiales.

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

No aplica

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

ADP-A2M4CD8 no se ha estudiado anteriormente y este es el primer ensayo realizado en humanos. No existe información sobre liberaciones previas.

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) *Homo Sapiens* (paciente de ensayo clínico en humanos)

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 enfoque terapéutico que forma la base de ADP-A2M4CD8, conocido como tratamiento con linfocitos T adoptivos (ACT), es un tratamiento que utiliza los propios linfocitos T de un paciente con cáncer modificados genéticamente, expandidos in vitro e infundidos de nuevo al paciente para potenciar la actividad antitumoral. El principal objetivo del proceso es la estimulación y expansión de una inmunidad potente y antígeno-específica en los linfocitos T .

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

No aplica

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:

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

No aplica

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:

No aplica

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:

Se realizan pruebas de existencia de lentivirus competente para la replicación (RCL) al vector lentiviral, confirmándose la ausencia de RCL en el momento de su liberación. Además, se realiza un lavado del vector durante el proceso de fabricación de los linfocitos T, que se mantienen a 37°C durante aproximadamente 10 días. Por tanto, es poco probable la presencia de partículas víricas libres en el producto final, ya que los vectores lentivirales recombinantes no son estables a 37°C durante más de 48 horas.

b) De otros organismos al OMG:

El producto está compuesto por linfocitos T autólogos modificados genéticamente, obtenidos de un solo paciente para uso exclusivo en dicho paciente. Los linfocitos T transducidos no sobreviven fuera del cuerpo humano ni son infecciosos, por tanto, no representan riesgo alguno para el medio ambiente en general y su liberación no entraña riesgos de posible transferencia de genes a otras especies.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Consulte la respuesta anterior (b)

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 aplica

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

No aplica

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Otro riesgo teórico asociado al uso de vectores lentivíricos es la aparición de lentivirus con capacidad replicativa (RCL); no se han detectado nunca RCL ni *in vitro* ni *in vivo*. Se realizará un seguimiento de los RCL en los pacientes que hayan recibido linfocitos T mediante la prueba de PCR que detecta y cuantifica las copias del gen que codifica la proteína de la envoltura del vector, es decir, la proteína G del virus de la estomatitis vesicular (VSV-G), como indicador de la presencia de RCL, ya que este gen está ausente en la partícula lentivírica recombinante. Se realizarán pruebas de RCL y seguimiento en el material siguiente:

- El producto celular; las pruebas de RCL serán realizadas por la planta de fabricación responsable de la producción y liberación del vector o bajo la dirección de esta.
- Las muestras de células mononucleares sanguíneas periféricas (CMSP) del paciente que se obtendrán antes de la infusión de los linfocitos T transducidos y, luego, a los 3, 6 y 12 meses y cada año desde el año 2 al 15 tras la infusión. Si los resultados de las pruebas son negativos en todos los puntos temporales durante el primer año, las muestras de CMSP se obtendrán de forma anual hasta la

suspensión de las evaluaciones de persistencia o hasta el año 15, lo que suceda antes.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No aplica

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

No aplica

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No aplica

5. Duración del seguimiento

Todos los pacientes tendrán un seguimiento de 15 años desde el momento de su última infusión de linfocitos T para observar los acontecimientos adversos (AA) retrasados de acuerdo con los requisitos de la FDA y la EMA sobre ensayos clínicos sobre genoterapia (FDA, 2006a, FDA, 2010 y EMA, 2009).

6. Frecuencia del seguimiento

Se verá a los pacientes y se harán análisis en los meses 3, 6 y 12 del primer año tras la infusión. Luego, se verá a los pacientes en el centro y se extraerán muestras cada 3 meses hasta el año 2 y, luego, cada 6 meses en los años 2-5 y cada año en los años 6-15 (historia clínica, exploración física, acontecimientos adversos, exposición a agentes mutagénicos, agentes antitumorales y otros medicamentos). Si un paciente recibe una segunda infusión de linfocitos T, el reloj se pondrá a cero con la segunda infusión.

I. Información sobre el tratamiento pos-liberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La limpieza de la habitación tras la infusión de linfocitos T seguirá los procedimientos habituales del hospital sobre hemoderivados. No se requieren medidas de limpieza ni desinfección especiales.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Otro riesgo teórico asociado al uso de vectores lentivíricos es la aparición de lentivirus con capacidad replicativa (RCL); no se han detectado nunca RCL ni *in*

vitro ni in vivo. Las muestras de sangre para analizar el RCL se obtendrán antes de la infusión de los linfocitos T transducidos y, luego, a los 3, 6 y 12 meses y cada año tras la infusión.

El análisis de RCL busca una codificación genética específica de la proteína de la envoltura del vector. Si los resultados de las pruebas son negativos en todos los puntos temporales durante el primer año, las muestras se obtendrán y archivarán durante un periodo de hasta 15 años después de la infusión.

No obstante, si la prueba es positiva, se informará al investigador y se hará una nueva prueba al paciente lo antes posible. El equipo de revisión de la seguridad y el comité ejecutivo de seguridad del promotor llevarán a cabo una revisión. Si el resultado de la segunda prueba es positivo, se pospondrán las infusiones a todos los sujetos que reciban linfocitos modificados con un vector del mismo lote.

Se programará la leucaféresis del paciente con una prueba positiva confirmada y se realizará una prueba de RCL biológico con el producto de leucaféresis. Con las pruebas de RCL biológico se evalúa si existe una producción activa de partículas víricas infecciosas del producto de leucaféresis. Si hay presencia de RCL biológico, se interrumpirán todas las infusiones de linfocitos ADP-A2M4CD8. Se comentará un plan de acción con las autoridades sanitarias y expertos, según corresponda. No se tratará a ningún otro sujeto hasta el momento en que se haya acordado, finalizado y revisado dicho plan.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los residuos incluirán plásticos, incluidos equipos de infusión intravenosa, bolsas de infusión vacías, agujas, guantes, delantales, gasas, discos de algodón y otros materiales desechables usados en la infusión del producto a base de linfocitos T a cada paciente individual.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los materiales que entren en contacto con el producto de linfocitos T (como materiales de plástico, agujas, guantes, gasas, algodón, etc.) se tratarán como residuos biológicos y se incinerarán / esterilizarán en autoclave antes de ser desechados.

Todo producto de linfocitos T que se deba destruir se introducirá en bolsas para residuos biológicos para su esterilización en autoclave.

Todos los materiales que entren en contacto con el producto de linfocitos T se eliminarán como residuos biosanitarios especiales de Categoría III.

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 promotor proporcionará a todos los centros formación sobre el estudio, incluidos la recepción, almacenamiento y manipulación del producto a base de

linfocitos T. El promotor también proporcionará al centro un Manual de aféresis y producto a base de linfocitos T.

En caso de derrame accidental, se contactará al promotor del estudio con información sobre la causa del derrame (por ejemplo, mal funcionamiento del envase) y un cálculo del volumen o proporción del producto a base de linfocitos T perdido. Si el derrame se debe a un fallo en la bolsa del producto o el material de envasado, estos se conservarán para su investigación, a ser posible.

Dado que el volumen del producto a base de linfocitos T es pequeño (unos 200 ml), es improbable que un derrame requiera un tratamiento especial; no obstante, si el producto se derramase combinado con volúmenes mayores de líquidos corporales, podría ser conveniente aumentar la limpieza de la zona con un equipo de descontaminación apropiado.

Se usarán los siguientes procedimientos como nivel mínimo de limpieza de derrames de productos a base de linfocitos T. Si los procedimientos locales o los procedimientos normalizados de trabajo (PNTs) requieren medidas más exhaustivas, deberán seguirse. No se debe dejar secar el producto a base de linfocitos T derramado, ya que eso aumenta la posible producción de aerosol.

Material

- **Guantes (guantes desechables de exploración médica no estériles)**
- **Vestimenta protectora desechable (delantal, gorro o bata de laboratorio)**
- **Protección ocular**
- **Gránulos de cloro (de haberlos)**
- **Solución desinfectante para descontaminación (preferentemente solución de hipoclorito, como HYPO-CHLOR o lejía con hipoclorito de sodio de 10.000 ppm; el peróxido de hidrógeno al 6 % es una buena alternativa para las superficies dañadas por el hipoclorito)**
- **Solución jabonosa o agua para aclarar**
- **Papel absorbente u otro material absorbente adecuado**
- **Pinzas o cuchara desechables**
- **Contenedor para objetos punzantes o vidrio roto de haberlo**
- **Bolsas para residuos médicos adecuadas para artículos potencialmente infecciosos, para la eliminación de material no punzante**
- **Instalaciones para el lavado de manos, con jabón y desinfectante de manos**

Procedimiento

- **Póngase los guantes y el delantal. Si el derrame es suficiente para que haya riesgo de salpicaduras, habrá que usar protección ocular**
- **Si se rompe una bolsa de producto, colóquela (y envuélvala y precíntela si procede) en una bolsa doble de residuos médicos con material absorbente en el fondo y guárdela para su investigación, de ser posible.**
- **Si el derrame sucede sobre la ropa, esta se quitará de inmediato para evitar una mayor contaminación. Las prendas contaminadas deberán ser desinfectadas según la política institucional local o quizá haya que desecharlas si están muy contaminadas**
- **Lave las zonas de piel potencialmente contaminadas con jabón y desinfectante de manos**
- **Si el derrame se realiza sobre el suelo, aplique gránulos de cloro directamente sobre él (de haberlos).**
- **Siga las instrucciones del fabricante de gránulos sobre el tiempo de contacto o deje actuar 15 minutos y limpie con papel absorbente**

- Si no tiene gránulos, coloque papel absorbente ocupando el doble de la superficie del derrame para absorberlo y contenerlo y luego aplique solución desinfectante encima para empapar el papel
- Siga las instrucciones del fabricante del desinfectante sobre el tiempo de contacto o deje actuar 15 minutos
- Si hay vidrio roto u objetos afilados, aplique primero solución desinfectante sobre el derrame, luego retire con cuidado los trozos de vidrio con unas pinzas o cuchara desechables y métalos en un contenedor para objetos punzantes antes de limpiar como ya se ha indicado
- Deseche el material absorbente usado, los residuos contaminados y los guantes y el delantal usados en una bolsa de residuos sanitarios
- Lave la zona afectada con agua y detergente
- Tras la limpieza, las manos se lavarán con jabón y desinfectante de manos

Si, durante el derrame o la limpieza, algo del producto a base de linfocitos T entrase en contacto con alguna herida, con alguna lesión que haya requerido puntos o salpicase en los ojos, la nariz o la boca, se seguirá la política local para incidentes con inoculación.

La supervisión de la presencia y persistencia de linfocitos T modificados genéticamente se aplica a todas las personas que reciban los linfocitos T modificados.

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

Todos los productos a base de linfocitos T se administrarán a los pacientes mediante infusión; una vez completada, los equipos de infusión se irrigarán con solución salina para garantizar que se administra todo el producto y que no queda producto sobrante. Todos los materiales de la infusión usados que haya que destruir se desecharán en bolsas de residuos clínicos para esterilización en autoclave.

En caso de vertido del producto, todos los residuos deben tratarse como residuos biosanitarios especiales de Categoría III.

En caso de vertido del producto, los procedimientos de limpieza a seguir se describen en la respuesta J1 (anterior).

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 aplica

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

Los organismos reguladores y los profesionales de la terapia génica han tratado previamente las medidas que se van a tomar en caso de que se detecte un RCL biológico confirmado en un paciente del ensayo clínico [FDA, 2006a]. Sin embargo, puesto que se desconocen la probabilidad y las características de un posible RCL, no se ha establecido ningún plan concreto. En el momento de la redacción de este protocolo, se acuerda que el paciente deberá estar aislado y que no se tratará a más pacientes con el mismo tratamiento con receptor de linfocitos T a menos que se acuerde un plan según se ha indicado.

Se han tratado los siguientes enfoques de tratamiento de los pacientes:

1. Seguimiento intensivo de pacientes en consulta con el Consejo interministerial de organismos modificados genéticamente y con la Comisión nacional de bioseguridad; así como con la FDA y otras autoridades sanitarias, el NIH, expertos en tratamientos genéticos, investigadores del estudio y médicos especialistas en VIH.
2. Proporcionar tratamientos antirretrovíricos selectivos basados en el genotipado del RCL.

Imagen 1: Diagrama de flujo de análisis de lentivirus con capacidad replicativa (RCL)

