



EVALUACIÓN DE RIESGO DE LA LIBERACIÓN AL MEDIO AMBIENTE DE CÉLULAS AUTÓLOGAS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE (Notificación B/ES/19/17)

Título del ensayo

Ensayo clínico en Fase II para evaluar la eficacia de la infusión de células autólogas CD34+ transducidas con un vector lentiviral portador del gen FANCA en pacientes con anemia de Fanconi subtipo A, de la empresa Rocket Pharmaceuticals, Inc.

Características del ensayo

En el ensayo participará el Hospital Universitario Infantil Niño Jesús.

Se prevé que participen 5 pacientes. La dosis de células infundidas será la resultante de la transducción de una población inicial de $\geq 5 \times 10^5$ CD34+ células/kg peso paciente.

Los pacientes serán seguidos por un periodo inicial de 3 años y luego anualmente hasta 15 años tras la infusión del OMG. Se tomarán diferentes muestras de pacientes, tanto sangre como medula ósea, comenzando en el primer mes tras la infusión para determinar parámetros hematológicos y cuantificar la presencia del OMG por PCR. Además, los estudios de clonalidad permitirán identificar los sitios de integración del vector en el genoma, para detectar cualquier dominancia clonal causada por la modificación genética.

Características del OMG

El OMG son células madre hematopoyéticas CD34+ de pacientes con anemia de Fanconi subtipo A transducidas con el vector lentiviral autoinactivante (SIN) PGK-FANCA-Wpre*.

El vector lentiviral utilizado es un vector derivado de VIH, 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 del virus de hepatitis de marmota mutado) y autoinactivantes (con deleciones en la LTR por lo que una vez integradas no son activas) y pseudotipado.

Evaluación del riesgo para la salud humana, animal y el medio ambiente

Teniendo en cuenta las características específicas del medicamento en investigación, el solicitante considera que la evaluación específica del riesgo ambiental prevista en las *Buenas Prácticas sobre la evaluación de aspectos relacionados con OMG en el contexto de ensayos clínicos con células humanas genéticamente modificadas por medio de vectores retrovirales/lentivirales* es aplicable¹.

Identificación de riesgos potenciales

Las células humanas no pueden proliferar en el medio ambiente ya que solo pueden sobrevivir dentro del cuerpo humano o en condiciones de cultivo *in vitro*. Como consecuencia, cuando el medicamento en investigación consta de células humanas modificadas genéticamente mediante vectores lentivirales, los riesgos para el medio ambiente y la salud están relacionados

¹ https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg-notificaciones-y-autorizaciones/proc_autorizacion.aspx



principalmente con la posibilidad de formación de un virus competente para la replicación y la presencia de partículas víricas residuales infecciosas del vector viral en el producto final que podrían liberarse al medio ambiente.

- Presencia de partículas virales libres

Como en el resto de los protocolos de transducción *ex vivo* realizados sobre células CD34+, el producto celular sometido al proceso de transducción será objeto de lavados previo a su preparación en el medio de congelación obteniéndose una reducción de más de 4 unidades logarítmicas de la concentración inicial en el medio de transducción de $2,5 \times 10^7$ UT/ml. Por otro lado, el medio de lavado del producto celular y el medio de infusión del producto final se componen de suero salino y 2% de albúmina sérica humana (HSA), por lo que se trata asimismo de un medio inactivante que contribuye a una disminución adicional de la cantidad de partículas virales en el producto final. Además de esta muy baja concentración de partículas virales y el uso de albúmina sérica humana para su inactivación en los lavados y la formulación del producto final, estudios previos han demostrado que el complemento inactiva la envuelta VSV-G utilizada para el empaquetamiento del vector terapéutico, por lo que en presencia de complemento estos vectores infectan con una eficacia 95 veces inferior las células humanas.

Así, las partículas virales residuales presentes en el producto final de infusión para el paciente son consideradas insignificantes y representan un riesgo muy bajo de transducción de células *in vivo*.

Además, se analizará el suero de los pacientes para confirmar la ausencia de partículas virales en el paciente. Dicho ensayo se realiza por qPCR. En todos los pacientes analizados en el ensayo de FANCOLEN I los niveles detectados se encontraron siempre por debajo del nivel de detección confirmando la seguridad del sistema.

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

El certificado de análisis del sobrenadante de vector lentiviral emitido por el productor certifica la ausencia de virus competentes para la replicación (RCL, Replication Competent Lentivirus), tanto en el sobrenadante como en las células de final de proceso de producción del vector lentiviral.

Las pruebas utilizadas para su determinación cumplen con los requerimientos de la EMA y la FDA (*Compendial Methods*). La detección de LCR en el sobrenadante se determina mediante co-cultivo con una línea permisiva (C8166-45) tras cinco pases (fase de amplificación).

El análisis del producto terminado en los cuatro primeros pacientes del ensayo clínico previo, FANCOLEN I, demostraron la ausencia de partículas de virus competentes para la replicación en todos los casos, así como su ausencia en el suero de los pacientes a los 2, 6, 12 y 24 meses post-infusión. Por acuerdo con la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios se analizará la ausencia de partículas de virus competentes únicamente en el suero de los pacientes. Además, en el caso del producto fabricado se guardarán muestras de retención para un posible análisis de LCR, si fuera necesario.

- Manipulación, control y tratamiento de residuos

Este producto se administra inmediatamente en fresco, sin almacenamiento ni congelación.



El personal debe utilizar ropa protectora, bata y guantes, para cualquier procedimiento que pueda conllevar un contacto directo con la piel. Todo el equipo y las superficies de trabajo deben ser limpiados con desinfectante.

Los residuos generados durante la actividad de manipulación de las células CD34+ transducidas o que haya podido estar en contacto con el producto debe ser depositado en contenedores especiales de bioseguridad, se consideran residuos de clase III y serán incinerados por una empresa gestora

Los residuos sólidos (como batas, gafas, vendas, torundas, etc.) se incinerarán en el centro hospitalario de la misma forma que los residuos clínicos habituales. A los residuos líquidos y a las superficies se les aplicará un desinfectante adecuado. Todos estos residuos se clasifican de clase I o II.

Los pacientes que reciban el medicamento en investigación deberán abstenerse de donar sangre, células, tejidos u órganos y así serán informados por el equipo médico.

El transporte de las muestras del paciente que se enviarán a otros laboratorios deben prepararse en un embalaje especial con tres capas: recipiente primario estanco y envuelto en material absorbente, recipiente secundario resistente y estanco, y una envoltura exterior para proteger el recipiente secundario.

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 de los mismos al Consejo Interministerial de OMG (CIOMG) y a la Comisión Nacional de Bioseguridad (CNB). 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 2 de agosto de 2019