

**Buona pratica sulla valutazione degli aspetti relativi agli OGM nell'ambito di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali<sup>1</sup>**

<b>Iter del documento</b>	<b>Data</b>	<b>Descrizione delle modifiche principali</b>
Versione 1	25 maggio 2018	

---

<sup>1</sup> Questo documento non è stato adottato dalla Commissione europea e, pertanto, non costituisce la sua posizione ufficiale.

## 1. Introduzione

Le sperimentazioni cliniche condotte nell'UE con medicinali sperimentali contenenti organismi geneticamente modificati ("OGM"<sup>2</sup>) o da essi costituiti devono essere conformi alla legislazione che disciplina l'autorizzazione delle sperimentazioni cliniche<sup>3</sup>. La procedura di autorizzazione nel quadro delle sperimentazioni cliniche ha lo scopo di garantire i diritti, la sicurezza, la dignità e il benessere degli individui che prendono parte a una sperimentazione clinica, oltre che l'affidabilità e la solidità dei dati generati.

Le sperimentazioni cliniche con medicinali contenenti OGM o da essi costituiti devono inoltre essere conformi ai requisiti applicabili previsti dalla direttiva 2001/18/CE sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati<sup>4</sup> ("quadro di emissione deliberata") e/o dalla direttiva 2009/41/CE sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati ("quadro di impiego confinato")<sup>5</sup>. Il quadro normativo sugli OGM ha lo scopo di garantire un livello di protezione elevato per la salute umana e l'ambiente.

Recenti scoperte in biomedicina hanno generato l'aspettativa che i medicinali di terapia genica possano dare risposte ad alcune esigenze mediche attuali non soddisfatte o fornire soluzioni innovative a malattie come il cancro o le malattie neurodegenerative. I medicinali di terapia genica coprono una vasta gamma di prodotti con livelli di rischio diversi per la salute umana e l'ambiente. È dunque emersa la necessità di orientamenti sull'applicazione del quadro sugli OGM alle cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali quando usato in un contesto di sperimentazione clinica. Tali orientamenti devono tener conto delle caratteristiche specifiche dei medicinali sperimentali interessati e dei relativi rischi per la salute pubblica e l'ambiente.

Il presente documento di buona pratica è stato sviluppato congiuntamente dai servizi della Commissione europea<sup>6</sup>, dalle autorità competenti degli Stati membri responsabili dell'attuazione della legislazione sulle sperimentazioni cliniche e da quelle responsabili

---

<sup>2</sup> Nel presente documento, per "OGM" si intendono sia gli organismi geneticamente modificati definiti all'articolo 2, paragrafo 2, della direttiva 2001/18/CE, sia i microrganismi geneticamente modificati ai sensi dell'articolo 2, lettera a), della direttiva 2009/41/CE.

<sup>3</sup> Regolamento (UE) n. 536/2014 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 16 aprile 2014, sulla sperimentazione clinica di medicinali per uso umano e che abroga la direttiva 2001/20/CE (GU L 158 del 27.5.2014, pag. 1). Fino all'entrata in vigore del regolamento, si applica la direttiva 2001/20/CE (direttiva 2001/20/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 4 aprile 2001, concernente il ravvicinamento delle disposizioni legislative, regolamentari ed amministrative degli Stati membri relative all'applicazione della buona pratica clinica nell'esecuzione della sperimentazione clinica di medicinali ad uso umano, GU L 121 dell'1.5.2001, pag. 34).

<sup>4</sup> Direttiva 2001/18/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 12 marzo 2001, sull'emissione deliberata nell'ambiente di organismi geneticamente modificati e che abroga la direttiva 90/220/CEE del Consiglio (GU L 106 del 17.4.2001, pag. 1).

<sup>5</sup> Direttiva 2009/41/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 6 maggio 2009, sull'impiego confinato di microrganismi geneticamente modificati (GU L 125 del 21.5.2009, pag. 75).

<sup>6</sup> Questo documento è uno dei risultati del dialogo avuto con le autorità nazionali competenti sull'interazione tra le legislazioni sugli OGM e quelle sui medicinali, come previsto dal piano d'azione comune della Commissione europea - DG Salute e sicurezza alimentare e dell'Agenzia europea per i medicinali sui medicinali per terapie avanzate.

dell'attuazione della legislazione sugli OGM, tenendo conto dell'esperienza maturata con questo tipo di medicinali. Il documento si basa sui principi enunciati dal Consiglio dell'Unione europea in merito alle politiche di ricerca e innovazione e, in particolare, al ricorso a tutte le possibilità previste dalla legislazione vigente per facilitare gli investimenti in ricerca e innovazione. A tal fine, gli Stati membri dovrebbero altresì valutare un'eventuale revisione dei propri quadri nazionali e dell'attuazione della legislazione dell'UE<sup>7</sup>.

Il documento è stato approvato dalle autorità nazionali competenti dei seguenti Stati membri: Austria, Belgio, Cipro, Repubblica ceca, Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Italia, Lussemburgo, Malta, Portogallo, Romania, Spagna e Svezia. Il documento è stato approvato anche dalla Norvegia<sup>8</sup>.

Il documento di buona pratica deve essere usato insieme al modulo unico di domanda sviluppato specificamente per questo tipo di medicinali sperimentali in tutti i paesi summenzionati, a eccezione della Repubblica ceca e della Svezia<sup>9</sup>.

## **2. Ambito di applicazione**

Il presente documento fornisce orientamenti sull'attuazione dei requisiti normativi previsti dal quadro sugli OGM applicabile alla realizzazione di sperimentazioni cliniche con cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali nei casi in cui il richiedente dimostri che:

- i) il rischio di formazione di virus competenti per la replicazione è nullo o trascurabile, conformemente alla sezione 3, punto 1;
- ii) il prodotto finito è privo di particelle residue di vettori virali infettivi che possono essere emesse nell'ambiente, conformemente alla sezione 3, punto 2.

Il medicinale sperimentale interessato contiene un costrutto stabilmente integrato che esprime uno o più geni donatori. I geni donatori possono essere di diversa origine (umana, virale, batterica, ecc.).

Ai fini del presente documento, per vettore retrovirale si intendono vettori gamma-retrovirali murini. Per quanto riguarda i vettori lentivirali, il presente documento è stato sviluppato sulla base delle conoscenze acquisite dalle cellule umane trasdotte con vettori lentivirali derivati

---

<sup>7</sup> Conclusioni del Consiglio su una regolamentazione favorevole alla ricerca e all'innovazione, adottate dal Consiglio nella sua 3470<sup>a</sup> sessione tenutasi il 27 maggio 2016.

<sup>8</sup> Riunione ad hoc congiunta delle autorità competenti responsabili dell'esecuzione di sperimentazioni cliniche con medicinali per uso umano e delle autorità competenti responsabili dell'applicazione della legislazione sugli OGM, tenutasi a Bruxelles il 25 giugno 2018.

<sup>9</sup> L'autorizzazione degli aspetti relativi agli OGM per le sperimentazioni cliniche con medicinali di terapia genica in Svezia è gestita dall'autorità competente per le sperimentazioni cliniche (procedura unica di presentazione delle domande). In Svezia i richiedenti potranno fare affidamento sulla specifica valutazione del rischio ambientale allegata al presente documento. Diversamente, essi possono contattare l'Agenzia svedese per i medicinali (Läkemedelsverket) per informazioni più dettagliate sul contenuto della domanda semplificata parallela alla domanda per le sperimentazioni cliniche.

dal virus dell'HIV. In caso di vettori lentivirali derivati da altri virus, gli sviluppatori sono invitati a effettuare una valutazione del rischio e contattare la relativa autorità competente.

I requisiti sanciti dal presente documento si applicano ai casi in cui la conduzione della sperimentazione clinica è regolata dal quadro di emissione deliberata e ai casi in cui la stessa è regolata dal quadro di impiego confinato.

Si sottolinea che il contenuto del presente documento (compresa la specifica valutazione del rischio ambientale) non può essere esteso, per estrapolazione, a prodotti diversi dalle cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali nei casi in cui il richiedente dimostri l'assenza di formazione di virus competenti per la replicazione e l'assenza di particelle residue di vettori virali infettivi nelle cellule trasdotte, conformemente alla sezione 3, punti 1 e 2.

### **3. Valutazione del rischio ambientale e requisiti relativi ai dati**

Le cellule umane non possono proliferare nell'ambiente in quanto possono sopravvivere solo all'interno del corpo umano o in condizioni di coltura in vitro. Ne consegue che, quando il medicinale sperimentale è costituito da cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali, i rischi per l'ambiente e la salute pubblica sono legati principalmente alla possibilità che si formi un virus competente per la replicazione e alla presenza di particelle residue di vettori virali infettivi nel prodotto finito che potrebbero essere emesse nell'ambiente.

Alla luce di ciò e dell'esperienza maturata con la valutazione delle cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retrovirali e lentivirali, la valutazione delle domande per la realizzazione di sperimentazioni cliniche con medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione di questo documento deve essere effettuata sulla base della descrizione del vettore virale usato, delle prove presentate per dimostrare l'assenza di formazione dei virus competenti per la replicazione e delle prove presentate per dimostrare l'assenza di particelle residue di vettori virali infettivi nel medicinale sperimentale. A tal fine, le autorità competenti responsabili dell'applicazione del quadro sugli OGM in Austria, Belgio, a Cipro, in Danimarca, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Italia, Lussemburgo, a Malta, in Portogallo, Romania, Spagna e Norvegia hanno concordato un modulo unico di domanda che può essere usato per richiedere l'autorizzazione a norma del quadro sugli OGM per lo svolgimento di sperimentazioni cliniche con medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione del presente documento ([link al modulo unico di domanda](#)).

Inoltre, si ritiene che la realizzazione di sperimentazioni cliniche con i medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione del presente documento non comporti rischi per la salute pubblica o per l'ambiente. Pertanto, ai fini della valutazione del rischio ambientale del medicinale sperimentale interessato, i richiedenti possono fare riferimento alla specifica valutazione del rischio ambientale allegata al presente documento.<sup>10</sup>

---

<sup>10</sup> La valutazione del rischio ambientale non è richiesta per le domande presentate nell'ambito del quadro di impiego confinato.

### 3.1. *Dimostrazione dell'assenza di formazione di virus competenti per la replicazione*

È necessario minimizzare il rischio che le parti costituenti del sistema del vettore virale si ricombinino tra loro o che si ricombinino con sequenze cellulari, poiché tale circostanza può generare un retrovirus/lentivirus competente per la replicazione. In particolare, i richiedenti dovrebbero prestare attenzione ai seguenti aspetti:

- il sistema di produzione retro-lentivirale è un sistema retro-lentivirale privo di sequenze richieste per la formazione di RCR/RCL<sup>11</sup>;
- la linea cellulare di produzione applicata non contiene HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV o altri retro-lentivirus rilevanti che potrebbero portare alla complementazione e/o alla ricombinazione del vettore retro-lentivirale;
- il lotto retro-lentivirale usato per la trasduzione viene testato per verificare la presenza di virus competenti per la replicazione con un test convalidato a livello del sistema di produzione virale o, in alternativa, nelle cellule trasdotte (ogni lotto di prodotto finito deve essere testato se non è stato effettuato alcun test a livello del sistema di produzione virale);
- l'insero (o gli inserti) applicato non porta alla complementazione del vettore retro-lentivirale.

### 3.2. *Dimostrazione dell'assenza di particelle residue di vettori virali infettivi nelle cellule trasdotte*

I richiedenti devono dimostrare che le particelle residue retro-lentivirali infettive sono state ridotte a concentrazioni trascurabili. È possibile che esista più di un modo per dimostrarlo, inclusi metodi qualitativi o quantitativi. È possibile utilizzare la formula fornita nella Tabella 1, ma sono accettabili anche altri metodi.

## 4. **Requisiti di produzione e livelli di confinamento**

La produzione dei medicinali sperimentali che rientrano nell'ambito di applicazione del presente documento deve essere effettuata in condizioni appropriate. A tal fine, la produzione di vettori virali e la trasduzione ex vivo di cellule umane con vettori virali devono essere regolate nell'ambito del quadro di impiego confinato. Si ricorda che la produzione di medicinali sperimentali (comprese le cellule umane geneticamente modificate) deve essere conforme alle buone pratiche di produzione<sup>12</sup>.

---

<sup>11</sup> Esempi attuali sono il sistema autoinattivante di seconda generazione (SIN), il sistema SIN di terza generazione e i sistemi translentivirali di quarta generazione.

<sup>12</sup> [https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2017\\_11\\_22\\_guidelines\\_gmp\\_for\\_atmps.pdf](https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/2017_11_22_guidelines_gmp_for_atmps.pdf)

Il livello di biosicurezza di queste attività deve essere determinato sulla base delle caratteristiche specifiche del sistema vettoriale. Nel determinare il livello di biosicurezza applicabile ("livello BSL") valgono le seguenti considerazioni:

- i) la maggior parte delle attività di produzione con cellule che riguardano sistemi lentivirali (sistemi di seconda e terza generazione e sistemi translentivirali di quarta generazione) e retrovirali (gamma murini) può essere eseguita in condizioni BSL-2;
- ii) la trasduzione delle cellule deve essere eseguita in condizioni BSL-2;
- iii) altre attività di produzione a valle (cioè dopo la trasduzione) possono, tuttavia, essere declassate a BSL-1 quando sono soddisfatte tutte le condizioni stabilite nella tabella seguente.

*Tabella 1 – Criteri per declassare il livello di biosicurezza a BSL-1*

<b>Criteri</b>	<b>Condizioni (cumulative)</b>
Caratterizzazione molecolare dei vettori applicati	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Caratterizzazione completa (cioè sequenza completa) del vettore virale usato per la trasduzione cellulare e caratterizzazione degli elementi critici sui vettori helper/packaging.</li> <li>• È necessario dimostrare l'assenza di scostamenti dalle sequenze previste.</li> </ul>
Assenza di virus competenti per la replicazione nel sistema di produzione virale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Il sistema di produzione retro-lentivirale applicato deve essere un sistema retro-lentivirale privo di sequenze richieste per la formazione di RCR/RCL<sup>13</sup>.</li> <li>• La linea cellulare di produzione applicata non deve contenere HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, SIV o altri retro-lentivirus rilevanti che potrebbero portare alla complementazione/ricombinazione del vettore retro-lentivirale.</li> <li>• Il lotto retro-lentivirale usato per la trasduzione viene testato per verificare la presenza di virus competenti per la replicazione con un test convalidato.</li> <li>• L'insero (o gli inserti) applicato non deve portare alla complementazione del vettore retro-lentivirale.</li> </ul>
Assenza di virus competenti per la replicazione nelle cellule GM	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sono escluse le cellule da pazienti/donatori positivi a HIV e HTLV.</li> <li>• Le cellule trasdotte sono state testate per verificare la presenza di retro-lentivirus competenti per la replicazione con un test convalidato, a meno che il richiedente non fornisca una giustificazione appropriata (ad esempio, l'assenza di formazione di virus competenti per la replicazione è stata dimostrata</li> </ul>

<sup>13</sup> Esempi attuali sono il sistema autoinattivante di seconda generazione (SIN), il sistema SIN di terza generazione e i sistemi translentivirali di quarta generazione.

	a livello del sistema di produzione virale).
Dopo la trasduzione, le cellule GM devono essere prive di particelle virali infettive residue	<p>Le particelle residue retro-lentivirali infettive sono state ridotte a concentrazioni trascurabili. È possibile che esista più di un modo per dimostrarlo, inclusi metodi qualitativi o quantitativi.</p> <p>Ad esempio, è possibile utilizzare la seguente formula<sup>14</sup> per determinare il cosiddetto "rapporto di riduzione" per consentire il declassamento da BSL-2 a BSL-1 (possono essere accettabili anche altri calcoli alternativi presentati dal richiedente):</p> <p><b>Rapporto di riduzione</b> = <math>(20^W \times 200^I \times 2^{2,4T})/C^i</math></p> <p><i>In questa formula:</i></p> <p><b>W</b> è il numero di fasi di lavaggio (assumendo che ogni fase di lavaggio riduca di 20 volte la quantità di particelle virali<sup>15</sup>),</p> <p><b>I</b> è il numero di fasi di lavaggio inattivanti con tripsina o siero umano (supponendo che ogni fase di lavaggio inattivante riduca di 200 volte la quantità di particelle virali<sup>16</sup> e possa essere adattata quando viene applicata un'envelope diversa da VSV-G per la pseudotipizzazione)</p> <p><b>T</b> è il tempo di cultura in giorni dopo la trasduzione.</p> <p>Il fattore 2,4 nella formula si basa sull'intervallo (10 ore) dei vettori lentivirali pseudotipizzati VSV-G alla temperatura di 37°C e deve essere adattato quando viene applicata un'envelope diversa da VSV-G per la pseudotipizzazione<sup>17</sup>.</p> <p><b>C<sup>i</sup></b> è il titolo virale iniziale applicato nell'inoculo.</p> <p>Può essere accettato un rapporto di riduzione risultante di &gt; 100 (due log) per il declassamento di cellule trasdotte retro-lentiviralmente da BSL-2 a BSL-1.</p>
Le sequenze virali nelle cellule GM non possono essere ricostituite per formare nuove particelle virali	Le cellule sono coltivate in condizioni volte a prevenire la (re-)infezione da lentivirus o retrovirus da altre fonti durante la coltura.

<sup>14</sup> Questa formula si basa su una formula sviluppata dalla Commissione olandese sulle modifiche genetiche (COGEM).

<sup>15</sup> Può essere applicato un livello di riduzione diverso se corroborato da dati convalidati dal richiedente.

<sup>16</sup> Può essere applicato un livello di riduzione diverso se corroborato da dati convalidati dal richiedente.

<sup>17</sup> Può essere applicato un fattore diverso da 2,4 se corroborato da dati convalidati dal richiedente.





## **1. Ambito di applicazione**

La presente valutazione specifica del rischio ambientale può essere applicata ai medicinali sperimentali che soddisfano le seguenti condizioni cumulative:

- i) il medicinale sperimentale è costituito da cellule umane geneticamente modificate mediante vettori retro-lentivirali;
- ii) il richiedente ha dimostrato che non vi è alcun rischio di formazione di virus competenti per la replicazione e che il prodotto finito è privo di particelle di vettori virali infettivi che possono essere emesse nell'ambiente conformemente alla sezione 3;
- iii) il prodotto finito è inteso come medicinale solo per uso umano e viene somministrato in centri clinici nell'ambito di una sperimentazione clinica autorizzata.

Nel presente documento, per "medicinale sperimentale interessato" si intende un prodotto che soddisfa le tre condizioni summenzionate.

## **2. Considerazioni generali**

Le cellule umane non possono proliferare nell'ambiente in quanto possono sopravvivere solo all'interno del corpo umano o in condizioni di coltura in vitro.

È altamente improbabile che l'espressione dei geni donatori alteri la sopravvivenza delle cellule umane nell'ambiente, ma può alterare il comportamento cellulare, ad esempio la regolazione del ciclo cellulare, l'apoptosi, la proliferazione e la sopravvivenza in condizioni di coltura in vitro o nel corpo umano.

Ne consegue che i potenziali rischi derivanti dall'uso clinico del medicinale sperimentale interessato sono quindi legati solo alla salute umana e non si ravvisano rischi potenziali per la salute animale o per l'ambiente.

### **3.1. Identificazione e caratterizzazione dei rischi.**

Non si ravvisano rischi per la salute animale o per l'ambiente.

#### Potenziali rischi per la salute umana

##### *Rischi connessi alla persistenza di cellule umane geneticamente modificate nella popolazione*

Il medicinale sperimentale interessato viene somministrato ai pazienti al fine di trattare, prevenire o curare una condizione di base. La persistenza del medicinale sperimentale interessato nel corpo del paziente trattato non costituisce un rischio per la salute umana. Tuttavia, per quanto improbabile, potrebbe configurarsi un rischio potenziale se si verificasse un trasferimento involontario del medicinale sperimentale interessato a soggetti diversi dal paziente bersaglio.

Le cellule umane non hanno capacità di colonizzazione in individui immunocompetenti. Anche se la presenza del vettore lentivirale integrato o dei costrutti del vettore retrovirale o dell'espressione della sequenza del donatore influenza le caratteristiche fenotipiche delle cellule geneticamente modificate, ciò non conferisce alcun vantaggio competitivo specifico alle cellule geneticamente modificate in individui immunocompetenti. Pertanto, in caso di trasferimento accidentale del medicinale sperimentale interessato a soggetti umani non bersaglio, le cellule geneticamente modificate verrebbero eliminate dal sistema immunitario di un individuo sano.

In caso di trasferimento involontario (ad esempio il trasferimento accidentale a un operatore sanitario o dovuto a un errore di somministrazione a un altro paziente) a individui immunocompromessi, in teoria potrebbero esistere potenziali rischi. Le potenziali conseguenze di un tale trasferimento accidentale dipenderebbero dagli effetti del costrutto integrato e delle sequenze espresse di geni del donatore sul fenotipo della cellula bersaglio.

*Rischi associati alla ricombinazione o alla mobilizzazione di sequenze virali dal costrutto integrato*

Potrebbero verificarsi potenziali rischi in caso di mobilizzazione o ricombinazione del vettore lentivirale integrato o dei costrutti del vettore retrovirale in seguito all'infezione delle cellule trapiantate con HIV o retrovirus nei pazienti con infezione attiva. Un altro scenario di rischio potenziale potrebbe essere la ricombinazione dei geni di origine virale del donatore presenti nel vettore lentivirale o nel costrutto del vettore retrovirale con i relativi virus endogeni dopo l'infezione delle cellule trapiantate con un virus altamente correlato, che porta a un nuovo virus GM (ammesso che la ricombinazione consentisse la replica delle sequenze ricombinate).

Le potenziali conseguenze di un tale evento dipenderebbero dalle caratteristiche del nuovo virus GM formatosi, ma potrebbero teoricamente portare a effetti nocivi su terzi in caso di trasmissione orizzontale.

### **3.2. Caratterizzazione dell'esposizione**

*Probabilità di effetti avversi legati alla persistenza di cellule umane geneticamente modificate nella popolazione*

Si potrebbero ipotizzare i tre possibili scenari riportati di seguito.<sup>18</sup>

- 1) Trasferimento accidentale a individui immunocompromessi. Uno scenario possibile di trasferimento accidentale a terzi sarebbe quello di una ferita da ago durante la somministrazione. Ciò potrebbe innescare il trasferimento delle cellule geneticamente modificate al destinatario accidentale del prodotto. Tuttavia, ciò comporterebbe persistenza solo in caso di immunodeficienza del destinatario accidentale del prodotto, poiché è trascurabile la probabilità che sia il paziente sia la persona iniettata accidentalmente abbiano gli stessi alplotipi MHC.

---

<sup>18</sup> Lo scenario di contaminazione attraverso l'ambiente (sanguinamento del paziente) non è considerato realistico dato che le cellule non possono sopravvivere al di fuori del corpo umano.

Le cellule umane trasdotte possono persistere nel corpo umano di un individuo immunocompromesso e questa persistenza può durare a lungo, a seconda delle caratteristiche delle cellule applicate. Tuttavia, la probabilità di effetti dannosi in caso di trasferimento accidentale è ritenuta trascurabile, considerando: 1) l'assenza di particelle di vettore virale infettivo e competente per la replicazione nelle cellule trasdotte; 2) il basso numero di cellule che verrebbero introdotte in caso di trasferimento accidentale; 3) l'assenza di un regime di precondizionamento nel destinatario accidentale delle cellule.

- 2) Somministrazione errata a un diverso paziente. Come nello scenario summenzionato, le cellule trasdotte persisterebbero solo se il paziente che ha ricevuto il medicinale sperimentale interessato a causa di un errore di somministrazione fosse immunodeficiente.

La probabilità di effetti dannosi in questo scenario è bassa, data l'assenza di particelle di vettori virali nelle cellule trasdotte. Inoltre, è estremamente improbabile che il destinatario accidentale in questo scenario sia stato soggetto a un regime di precondizionamento che favorisca la sopravvivenza a lungo termine delle cellule trasdotte.

- 3) Donazione di sangue, cellule, tessuti o organi a terzi immunocompromessi. Un possibile scenario di trasferimento a terzi sarebbe quello di una trasfusione di sangue o trapianto di cellule, tessuti o organi da un donatore trattato con il medicinale sperimentale interessato.

La probabilità di effetti dannosi nel caso in cui le cellule trasdotte da un paziente trattato con il medicinale sperimentale interessato vengono trasferite a terzi tramite donazione è considerata bassa data l'assenza di particelle del vettore virale nelle cellule trasdotte.

Inoltre, il medicinale sperimentale interessato viene spesso somministrato per trattare condizioni che, di fatto, implicano la non idoneità del paziente come futuro donatore<sup>19</sup>. In questi casi, la probabilità di effetti dannosi è trascurabile.

---

<sup>19</sup> I criteri di ammissibilità per i donatori di sangue intero e componenti del sangue sono stabiliti nell'allegato III alla direttiva 2004/33/CE che applica la direttiva 2002/98/CE del Parlamento europeo e del Consiglio relativa a taluni requisiti tecnici del sangue e degli emocomponenti (GU L 91 del 30.3.2004, pag. 25), come modificata. I criteri di selezione per i donatori di tessuti e cellule sono stabiliti nell'allegato I alla direttiva 2006/17/CE della Commissione, dell'8 febbraio 2006, che attua la direttiva 2004/23/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda determinate prescrizioni tecniche per la donazione, l'approvvigionamento e il controllo di tessuti e cellule umani (GU L 38 del 9.2.2006, pag. 40), come modificata. I criteri di caratterizzazione degli organi e dei donatori di organi sono stabiliti nell'allegato alla direttiva 2010/45/UE del Parlamento europeo e del Consiglio relativa alle norme di qualità e sicurezza degli organi umani destinati ai trapianti (GU L 207 del 6.8.2010, pag. 14).

### *Probabilità di mobilizzazione o ricombinazione del vettore virale con altri virus*

La mobilizzazione o la ricombinazione del vettore virale con altri virus è generalmente considerata improbabile a causa della struttura carente dei vettori comunemente usati per la produzione di medicinali di terapia genica.

In relazione allo scenario di mobilizzazione del costrutto lentivirale o retrovirale integrato in seguito a infezione delle cellule del donatore nel corpo del paziente con HIV, HTLV o retrovirus endogeni, si osserva che, mentre la possibilità di mobilizzazione e ricombinazione è stata identificata in condizioni in vitro, non è mai stata osservata in studi clinici condotti negli ultimi 20 anni, compresi gli studi clinici con pazienti affetti da HIV.

La probabilità di mobilizzazione del costrutto lentivirale integrato in seguito a infezione delle cellule del donatore nel corpo del paziente con HIV, HTLV o retrovirus endogeni è considerata trascurabile per i seguenti motivi:

- nel caso dei vettori lentivirali, la natura difettosa della replica del vettore impedisce la mobilizzazione spontanea del vettore integrato dalle cellule trasdotte, a meno che le funzioni helper non siano fornite nelle cellule trasdotte da una superinfezione con virus wild type in un ospite infetto. La caratteristica autoinattivante (SIN) del vettore LTR impedisce la mobilizzazione del vettore anche in caso di superinfezione della cellula trasdotta da parte di un virus wild type.
- Nel caso dei vettori gamma-retrovirali, anche un evento di ricombinazione è altamente improbabile considerando che, in linea di principio, i retrovirus murini non infettano gli esseri umani. Il rischio che il provirus o il vettore libero siano mobilizzati attraverso la ricombinazione tra il genoma del vettore integrato e le sequenze genetiche da retrovirus potenzialmente co-infettive è molto teorico. Non sono stati trovati virus gamma-retrovirali infettivi esogeni negli esseri umani e la ricombinazione tra sequenze di vettori e retrovirus non-gamma-retrovirali co-infettivi non dovrebbe produrre RCR. Affinché diventi un RCR, un provirus dovrebbe ottenere sequenze di codifica gag-pol eterologhe ed env da altre fonti all'interno della stessa cellula del provirus. Non sono noti gamma-retrovirus esogeni in popolazioni umane che potrebbero introdurre sequenze funzionali di codifica gag-pol ed env in cellule trasdotte.

### **3.3. Caratterizzazione del rischio**

#### *Rischio associato alla persistenza di cellule umane geneticamente modificate nella popolazione*

Gli unici possibili rischi sono associati al trasferimento involontario di cellule dei donatori a individui immunocompromessi nei tre possibili scenari riportati di seguito.

- 1) Trasferimento accidentale a individui immunocompromessi. Per le ragioni sopra esposte, l'entità degli effetti avversi legati al trasferimento accidentale del medicinale

sperimentale interessato a individui immunodeficienti è trascurabile. Inoltre, il medicinale sperimentale interessato è somministrato da professionisti addestrati in ambiente altamente controllato, che riduce al minimo la probabilità che si verifichino trasferimenti accidentali durante la somministrazione/manipolazione del prodotto. Inoltre, la probabilità che si verifichi un incidente durante la somministrazione/manipolazione del prodotto e che l'operatore sanitario coinvolto sia anche immunocompromesso è considerata estremamente bassa. Pertanto, si può concludere che il rischio associato alla persistenza di cellule geneticamente modificate nello scenario di trasferimento accidentale è trascurabile.

- 2) Somministrazione errata a un diverso paziente. Per le ragioni sopra esposte, l'entità degli effetti avversi legati al trasferimento accidentale del medicinale sperimentale interessato a individui immunodeficienti è bassa. Inoltre, la somministrazione ai pazienti del medicinale sperimentale interessato è effettuata da personale addestrato in ambiente altamente controllato, con severi requisiti di etichettatura e tracciabilità per evitare errori di somministrazione. Ne consegue che i rischi per gli individui immunocompromessi nello scenario di trasferimento accidentale sono trascurabili.
- 3) Donazione di sangue, cellule, tessuti o organi a terzi immunocompromessi. Come spiegato sopra, la probabilità di effetti avversi legati al trasferimento accidentale del medicinale sperimentale interessato a individui immunocompromessi è bassa. Nei casi in cui le cellule umane geneticamente modificate sono destinate a trattare condizioni che squalificano il paziente come potenziale donatore, i rischi per gli individui immunocompromessi tramite trasfusione/trapianto sono trascurabili. In altri casi, il richiedente deve prendere in considerazione l'eventualità di vietare ai pazienti la donazione di sangue/cellule/tessuti/organi dopo la somministrazione di cellule umane geneticamente modificate.

*Rischi associati alla ricombinazione o alla mobilizzazione di sequenze virali dal costrutto integrato*

Gli unici possibili rischi sono associati alla mobilizzazione di sequenze lentivirali integrate in seguito a infezione attiva delle cellule del donatore con HIV o HTLV.

Come spiegato sopra, la probabilità di mobilizzazione o ricombinazione del vettore virale con altri virus è trascurabile. Pertanto, i rischi per la popolazione umana sarebbero trascurabili.

### **3.4. Strategie di gestione del rischio**

Il richiedente deve prendere in considerazione l'eventualità di vietare ai pazienti la donazione di sangue/cellule/tessuti/organi dopo la somministrazione del medicinale sperimentale interessato. In caso di presentazione della domanda nelle giurisdizioni che applicano il modulo unico di domanda, tale circostanza deve essere riportata nella sezione 3 del modulo.

È necessario attuare misure adeguate per prevenire i rischi di trasferimento accidentale durante la somministrazione a operatori sanitari coinvolti nella manipolazione/somministrazione del prodotto. In caso di presentazione della domanda nelle

giurisdizioni che applicano il modulo unico di domanda, tale circostanza deve essere riportata nella sezione 3 del modulo.

È necessario prevedere misure adeguate per la conservazione, il trasporto e il trattamento dei rifiuti. In caso di presentazione della domanda nelle giurisdizioni che applicano il modulo unico di domanda, tale circostanza deve essere riportata nella sezione 3 del modulo.

### **3.5. Determinazione del rischio complessivo e conclusioni**

Non è identificabile alcun rischio per l'ambiente o per la salute animale. A condizione che siano attuate le misure di controllo descritte dal richiedente (nel caso di presentazione della domanda nelle giurisdizioni che applicano il modulo unico di domanda, le misure di controllo descritte nella sezione 3), i rischi complessivi per la salute umana sono considerati trascurabili.