

PARTE 1 (DECISÃO DO CONSELHO 2002/813/CE)

MODELO DE RESUMO DE NOTIFICAÇÃO DA LIBERTAÇÃO DE ORGANISMOS
GENETICAMENTE MODIFICADOS COM EXCEÇÃO DAS PLANTAS SUPERIORES EM
CONFORMIDADE COM O ARTIGO 11.º DA DIRETIVA 2001/18/CE

Para assinalar uma ou várias possibilidades, utilize cruces (ou seja, x ou X) no espaço fornecido como (.)

A. Informações gerais

1. Detalhes da notificação

Pedido de autorização para utilizar o ME CC-97540 geneticamente modificado (também conhecido como BMS-986353) em Portugal.

- | | |
|--|------------|
| (a) Estado-Membro da notificação | Portugal |
| (b) Número da notificação | B/PT/25/02 |
| (c) Data de confirmação da notificação | 12/06/2025 |
| (d) Título do projeto | |

Estudo de fase 2, multicêntrico, sem ocultação, com CC-97540 (BMS-986353), células T com recetor de antigénio quimérico (*chimeric antigen receptor* - CAR) NEXT-T dirigidas contra CD19, em participantes com lúpus eritematoso sistémico (LES) ativo (incluindo nefrite lúpica) com resposta inadequada a glucocorticoides e a, pelo menos, 2 imunossuppressores (LES refratário)

- | | |
|------------------------------------|--|
| (e) Período de libertação proposto | De 31 de julho de 2025 até 15 de junho de 2032 |
|------------------------------------|--|

2. Notificador

Nome da instituição ou empresa:

Celgene Corporation, Route 206 and Province Line Road, Princeton, NJ 08543 EUA.
O notificador/requerente é a Bristol-Myers Squibb Farmacêutica Portuguesa, S.A.

3. Caracterização do OGM

- (a) Indicar se o OGM é um:

- | | | |
|--------------|-----|--|
| viroide | (.) | |
| vírus de ARN | (.) | |
| vírus de ADN | (.) | |
| bactéria | (.) | |
| fungo | (.) | |
| animal | | |
| - mamíferos | (X) | Linfócitos T autólogos (humanos) geneticamente modificados |
| - inseto | (.) | |
| - peixe | (.) | |

- outro animal (.) especificar filo, classe

outro, especificar (reino, filo e classe)

(b) Identidade do OGM (género e espécie)

O OGM CC-97540 (também conhecido como BMS-986353) consiste em células T autólogas de *Homo sapiens* transduzidas com um vetor lentiviral (VLV) que codifica um recetor de antigénio quimérico (*chimeric antigen receptor* - CAR) dirigido contra células que exprimem CD19. O CC-97540 é uma terapia de células T-CAR de segunda geração, que consiste em células T CD3+ autólogas que exprimem um CAR específico para CD19, que consiste numa sequência do domínio de ligação de um fragmento variável de cadeia simples (*single chain variable fragment* - scFv) isolado de uma linha celular de hibridoma de murino específica para CD19 (FMC63), fundido em sequência à região de charneira da IgG4, à região transmembranar de CD28, aos domínios de sinalização da cadeia 4-1BB e CD3ζ (zeta). Há ainda co-expressão de um recetor do fator de crescimento epidérmico truncado (EGFRt), não funcional, com o CAR específico para CD19 através de um peptídeo autoclivante.

(c) Estabilidade genética – de acordo com o Anexo IIIa, II, A(10)

As sequências que codificam o CAR dirigido contra CD19 e o EGFRt são introduzidas nas células T por transdução *ex vivo* com um vetor lentiviral de terceira geração, incompetente para replicação, autoinativante (*self-inactivating* - SIN). Devido à integração do vetor viral no genoma do hospedeiro, estas sequências estarão presentes como uma parte integrante e estável do ADN do hospedeiro nas células T transduzidas durante o período durante o qual as células persistem após a perfusão. O VLV foi concebido de modo a codificar apenas os genes necessários para a expressão do CAR e do EGFRt, e não possui os genes necessários para a replicação ou patogenicidade do VIH.

4. Está planeada a libertação do mesmo OGM noutros locais da Comunidade (em conformidade com o n.º 1 do Artigo 6.º) pelo mesmo notificador?

Sim (X) Não (.)

Em caso afirmativo, inserir o(s) código(s) do(s) país(es) AT; BE; DE; DK; ES; FR; IT; PL

5. O mesmo OGM foi notificado para libertação noutros locais da Comunidade pelo mesmo notificador?

Sim (X) Não (.)

Se sim:

- Estado-Membro da notificação: **BE**
- Número da notificação: SBB219.2023/0797R (EUCT: 2023-503823-24-00)
- Número da notificação: SBB219.2024/0224R (2023-507820-22-00)

- Estado-Membro da notificação: **ES**
- Número da notificação: B/ES/23/17, B/ES/24/01

- Estado-Membro da notificação: **FR**
- Número da notificação: 12925443 (EUCT: 2023-503823-24-00), 15435624 (EUCT: 2023-507820-22-00)

- Estado-Membro da notificação: **IT**
- Número da notificação: RM/IC/Op1/23/004, MI/IC/Op1/23/009

- Estado-Membro da notificação: **DE**
- Número da notificação: B/DE/23/PEIP00492, B/DE/23/PEIP01128

Utilizar os seguintes códigos de país:

Áustria AT; Bélgica BE; Alemanha DE; Dinamarca DK; Espanha ES; Finlândia FI; França FR; Reino Unido GB; Grécia GR; Irlanda IE; Islândia IS; Itália IT; Luxemburgo LU; Países Baixos NL; Noruega NO; Portugal PT; Suécia SE

6. O mesmo OGM foi notificado para libertação ou colocação no mercado fora da Comunidade pelo mesmo notificador ou por outro?

Sim (X) Não (.)

Se sim:

- Estado-Membro da notificação: **US**
- Número da notificação: US: IND 019292 IND 029373, e IND 029927;

- Estado-Membro da notificação: **Canadá**
- Número da notificação: NSN 20512

- Estado-Membro da notificação: **UK**
- Número da notificação: IRAS ID: 1009171

7. Resumo do potencial impacto ambiental da libertação dos OGM

Não se prevê um impacto ambiental com a administração do produto farmacológico CC-97540 a participantes neste ensaio clínico. O produto farmacológico CC-97540 será fornecido ao centro clínico para perfusão intravenosa no doente. Como tal, não se prevê um impacto ambiental, dado que a libertação de células T autólogas transduzidas está limitada à administração no doente num contexto hospitalar e não chegará ao meio ambiente em geral. Não existem mecanismos de dispersão fora do corpo humano. As células transduzidas não são viáveis no ambiente fora do doente. A persistência e replicação do vetor viral no meio ambiente não são possíveis devido à utilização de um VLV incompetente para replicação, autoinativante.

B. Informações relativas ao organismo recetor ou parental do qual o OGM é derivado

A informação fornecida nesta secção está relacionada com os linfócitos T humanos enquanto organismo recetor e parental.

1. Caracterização do organismo recetor ou parental:

(a) Indicar se o organismo recetor ou parental é um:

(selecionar apenas uma opção)

- viroide (.)
- vírus de ARN (.)
- vírus de ADN (.)
- bactéria (.)
- fungo (.)

animal

- mamíferos (X) Linfócitos T autólogos (humanos)
- inseto (.)
- peixe (.)
- outro animal (.)
(especificar filo, classe)

outro, especificar

2. Nome

- (i) ordem e/ou táxon superior (para animais): Primatas
- (ii) género: *Homo*
- (iii) espécie: *H. sapiens*
- (iv) subespécie: Não aplicável
- (v) estirpe: Não aplicável
- (vi) patovar (biótipo, ecótipo, raça, etc.): Não aplicável
- (vii) designação comum: Linfócitos T humanos, células T

3. Distribuição geográfica do organismo

- (a) Nativo, ou estabelecido de outra forma, no país onde a notificação é feita:
Sim (X) Não (.) Desconhecido (.)

- (b) Nativo, ou estabelecido de outra forma, noutros países da CE:
(i) Sim (.), as perguntas seguintes não são aplicáveis a células humanas

Se sim, indicar o tipo de ecossistema em que se encontra:

Atlântico ..
Mediterrânico ..
Boreal ..
Alpino ..
Continental ..
Macaronésico ..

- (ii) Não (.)
- (iii) Desconhecido (.)

- (c) É utilizado frequentemente no país onde a notificação é feita?
Sim (.) Não (.) não aplicável a células humanas

- (d) É armazenado frequentemente no país onde a notificação é feita?
Sim (.) Não (.) não aplicável a células humanas

4. Habitat natural do organismo

- (a) Se o organismo for um microrganismo

água (.)
solo, vive livremente (.)
solo em associação com sistemas radiculares de plantas (.)
em associação com sistemas foliares/caulinares de plantas (.)
outro, especificar - não aplicável a células humanas

(b) Se o organismo for um animal: habitat natural ou agroecossistema habitual:

Não aplicável. O CC-97540 é uma população de células T humanas que se destina a utilização autóloga. É fabricada a partir de leucaferese autóloga, seguida pelo fabrico de CC-97540 e por perfusão no mesmo doente.

5. (a) Técnicas de deteção

Técnicas comuns de análise de células sanguíneas (p. ex., citometria de fluxo)

(b) Técnicas de identificação

Técnicas comuns de análise de células sanguíneas (p. ex., citometria de fluxo)

6. O organismo recetor está classificado ao abrigo das regras Comunitárias em vigor para a proteção da saúde humana e/ou do ambiente?

Sim (.) Não (X) As células T humanas não estão classificadas ao abrigo das regras Comunitárias em vigor.

Se sim, especificar

...

7. O organismo recetor é significativamente patogénico ou nocivo de alguma outra forma (incluindo os respetivos produtos extracelulares), seja vivo ou morto?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Se sim:

(a) para quais dos organismos seguintes:

seres humanos (.)
animais (.)
plantas (.)
outro (.)

(b) facultar a informação relevante especificada no Anexo III A, ponto II. (A)(11)(d) da Diretiva 2001/18/CE

O OGM é derivado de células T autólogas isoladas a partir do sangue periférico de doentes com lúpus eritematoso sistémico (LES) ativo. As células T não conseguem sobreviver fora do doente. As células não são patogénicas e não conseguem persistir ou replicar-se no meio ambiente ou noutros organismos.

11. Modificações genéticas anteriores do organismo recetor ou parental já notificadas para libertação no país onde é feita a notificação (apresentar os números de notificação)

Os linfócitos T do doente, a partir dos quais o OGM é derivado, não foram objeto de modificação genética prévia.

C. Informações relativas à modificação genética

A informação fornecida nesta secção está relacionada com as células T humanas geneticamente modificadas por transdução com o vetor lentiviral CAR anti-CD19.

1. Tipo de modificação genética
- | | | |
|-------|-------------------------------|-----|
| (i) | inserção de material genético | (X) |
| (ii) | deleção de material genético | (.) |
| (iii) | substituição de base | (.) |
| (iv) | fusão celular | (.) |
| (v) | outras, especificar | |

2. Resultado pretendido da modificação genética

A transdução lentiviral *ex vivo* de células T autólogas, purificadas, leva à integração dos transgenes no genoma do hospedeiro, resultando na expressão do CAR específico anti-CD19 e de EGFRt na superfície das células T. O CAR específico anti-CD19 consiste num domínio de ligação de um scFv derivado de um anticorpo monoclonal de murino FMC63 específico para CD19, fundido à região de charneira da IgG4, à região de transmembranar de CD28 e aos domínios de sinalização da cadeia 4-1BB e CD3 ζ . Prevê-se que as células T-CAR CC-97540 reconheçam e provoquem a lise das células que expressam CD19. A proteína de superfície celular, não funcional, de EGFRt que é co-expressa poderá servir como identificação das células transduzidas.

3. (a) Foi utilizado algum vetor no processo de modificação?

Sim (X) Não (.)

Se não, avançar diretamente para a pergunta 5.

- (b) Se sim, o vetor encontra-se total ou parcialmente presente no organismo modificado?

Sim (X) Não (.)

Se não, avançar diretamente para a pergunta 5.

4. Se a resposta a 3(b) for sim, fornecer a informação seguinte

- (a) Tipo de vetor

plasmídeo	(.)
bacteriófago	(.)
vírus	(X)
cosmídeo	(.)
elemento transponível	(.)
outro, especificar	...

(b) Identidade do vetor

O vetor LVL CAR anti-CD19 é um vetor lentiviral de terceira geração, incompetente para replicação, autoinativante (SIN), derivado do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) e pseudotipado com a glicoproteína G do vírus da estomatite vesicular (VSV-G). Codifica um CAR específico para o antígeno CD19, assim como um EGFR truncado, não funcional.

(c) Gama de hospedeiros do vetor

O vetor VLV CAR anti-CD19 é pantrópico e apresenta uma larga gama de hospedeiros que pode infectar mais do que uma espécie ou linha de cultura celular. Contudo, é importante realçar que o vetor lentiviral não é competente em termos de replicação e não codifica quaisquer genes patogénicos. Além disso, não se prevê que a suspensão de células transduzidas perfundida no doente contenha partículas residuais infecciosas do vetor lentiviral ou partículas virais competentes para replicação.

(d) Presença no vetor de sequências que resultem num fenótipo selecionável ou identificável

Sim	(X)	Não	(.)
resistência a antibióticos			(.)
outro, especificar			

Não estão presentes quaisquer genes de resistência a antibióticos no vetor lentiviral CAR anti-CD19.

As sequências do fragmento variável de cadeia simples anti-CD19 e de EGFRt no VLV permitem a identificação de linfócitos T CAR positivos.

Indicação do gene de resistência a antibióticos que é inserido: –

Não aplicável. Não estão presentes quaisquer genes de resistência a antibióticos no vetor lentiviral CAR anti-CD19.

(e) Fragmentos constitutivos do vetor

Os componentes da partícula do VLV necessários para a infecciosidade do vetor incluem o ácido nucleico (ARN), proteínas estruturais do vetor, enzimas e um envelope lipídico, o qual é derivado das células de produção durante a extrusão do vírus

(*budding*) e são pseudotipados com glicoproteína G do vírus da estomatite vesicular (VSV-G). Todas as proteínas estruturais e enzimas são derivadas da poliproteína Gag-Pol do vetor, a qual é clivada pela enzima protease durante a maturação das partículas. A proteína da matriz forma o invólucro esférico da partícula do LV, enquanto a proteína da cápside forma um invólucro interno que contém o ácido ribonucleico (ARN) do vetor associado à proteína da nucleocápside. Este invólucro interno da cápside também contém as enzimas transcriptase reversa e integrase.

O genoma linear, de ARN de cadeia simples do vetor lentiviral anti-CD19 codifica os genes para o CAR anti-CD19 e para o EGFR_t, a jusante do mesmo promotor, e não codifica qualquer gene viral. O promotor que aciona a expressão do transgene é um promotor híbrido que consiste no promotor eucariota do fator de alongamento 1 (EF1 α) (alfa) e no elemento R do vírus da leucemia de células T humanas (HTLV)-1 (promotor EF1 α (alfa)/HTLV-1R). O elemento R do HTLV-1 serve como um intrão/intensificador para o promotor EF1 α (alfa).

As outras sequências provirais inseridas são derivadas do VIH-1. Estas sequências compreendem as regiões LTR, que se tornaram autoinativantes por eliminação de sequências do promotor/intensificador, e regiões atenuadas das proteínas e elementos que auxiliam na produção, empacotamento ou transferência do transcrito que contém o gene terapêutico. O VLV não codifica quaisquer proteínas do VIH.

Mais precisamente, o ARN do VLV CAR anti-CD19 codifica vários elementos virais, incluindo Repetições Terminais Longas (*Long Terminal Repeats* - LTRs) que direcionam a transcrição reversa e a integração da forma proviral, um elemento de resposta Rev que permite um aumento mediado por Rev na estabilidade do ARN viral, e um trecho de polipurina central que é necessário para uma transcrição reversa eficaz. A LTR 3' foi modificada de modo a eliminar o promotor/intensificador na região U3 e confere propriedades SIN à forma proviral integrada. A modificação SIN elimina 400 pb, incluindo a caixa TATA e sítios de ligação para os fatores de transcrição Sp1 e NF- κ B, e é transferida para a LTR 5' durante a transcrição reversa. Como tal, as LTR na forma proviral integrada são inativas em termos de transcrição e altamente comprometidas no que diz respeito à síntese de um ARN viral de comprimento total nas células T transduzidas. As LTR SIN também reduzem o potencial para afetar a transcrição de regiões de codificação celular adjacentes ao local de integração viral. Além disso, o codão de iniciação da tradução no fragmento do gene gag, que é parte do sinal de empacotamento Psi, foi mutado produzindo um codão de paragem da tradução, impedindo a produção de qualquer proteína Gag. Adicionalmente, está presente um elemento mutante regulador derivado de um Elemento Regulador Pós-transcricional do vírus da hepatite da marmota (*Woodchuck hepatitis virus Posttranscriptional Regulatory Element* - WPRE) para melhorar a estabilidade do ARN viral do vetor.

O vetor é deficiente em termos de replicação e é autoinativante. Não é possível a constituição de novas partículas virais, nem a libertação das mesmas a partir da célula hospedeira final, devido à ausência, no provírus, de todas as proteínas acessórias que conferem infecciosidade e potencial replicativo ao lentivírus.

(f) Método para a introdução do vetor no organismo recetor

- (i) transformação (.)
- (ii) eletroporação (.)
- (iii) macroinjeção (.)
- (iv) microinjeção (.)
- (v) infeção (.)
- (vi) outro, especificar (X) Transdução

5. Se a resposta à pergunta B.3(a) e (b) for não, qual foi o método utilizado no processo de modificação?

Não aplicável.

- (i) transformação (.)
- (ii) microinjeção (.)
- (iii) microencapsulação (.)
- (iv) macroinjeção (.)
- (v) outro, especificar (.)

6. Composição da inserção

(a) Composição da inserção

A inserção codifica as sequências necessárias para a expressão e produção do transgene CAR terapêutico.

O transgene codifica uma sequência de sinalização líder N-terminal para direcionar a expressão na superfície, um scFv específico para CD19 derivado do anticorpo monoclonal IgG1 de murino FMC63, a região de charneira da IgG4 humana e a região transmembranar de CD28 humana, um elemento co-estimulador de 4-1BB de células T humanas, a cauda citoplasmática de CD3zeta humana para ativação das células T, um peptídeo de ligação autoclivante e o EGFRt, um polipeptídeo transmembranar recetor do fator de crescimento epidérmico tipo I, truncado (EGFRt), não funcional.

Abaixo encontra-se a descrição dos elementos transgénicos, incluindo a origem e a função de cada componente:

Componente da inserção: Sequência de sinalização líder N-terminal

Origem: Humana

Função: Direciona a expressão de CAR na superfície

Componente da inserção: scFv anti-CD19

Origem: Ratinho e sintética (derivado do anticorpo monoclonal FMC63 de murino)

Função: Recetor de antígeno específico para CD19

Componente da inserção: Charneira da IgG4

Origem: Humana

Função: Fornece espaço suficiente para o scFv em relação à membrana celular

Componente da inserção: Região transmembranar de CD28

Origem: Humana

Função: Domínio transmembranar para ancoragem à membrana celular

Componente da inserção: Elemento co-estimulador de 4-1BB

Origem: Humana

Função: Domínio citoplasmático para a co-estimulação das células T

Componente da inserção: Cauda citoplasmática de CD3zeta

Origem: Humana

Função: Domínio citoplasmático para a ativação das células T

Componente da inserção: Peptídeo de ligação

Origem: Vírus Thosea Asigna

Função: Polipeptídeo ligante, autoclivante, para separar o CAR do EGFRt pós-translacionalmente

Componente da inserção: Sequência de sinalização líder N-terminal

Origem: Humana

Função: Direciona a expressão de EGFRt na superfície

Componente da inserção: Polipeptídeo transmembranar EGFRt

Origem: Humana

Função: Proteína da superfície celular, truncada e não funcional, para identificação de células transduzidas

(b) Origem de cada parte constituinte da inserção
Ver resposta a 6 (a).

(c) Função pretendida de cada parte constituinte da inserção no OGM
Ver resposta a 6 (a).

(f) Localização da inserção no organismo hospedeiro

- num plasmídeo livre (.)
- integrada no cromossoma (X)
- outro, especificar

(g) A inserção contém partes cujos produtos ou funções não sejam conhecidos?
Sim (.) Não (X)
Se sim, especificar

D. Informação sobre o(s) organismo(s) a partir do(s) qual(uais) a inserção é derivada

1. Indicar se é um(a):

- viroide (.)
- vírus de ARN (X)
- vírus de ADN (.)
- bactéria (.)
- fungo (.)
- animal
- mamíferos (X)
- inseto (.)

- peixe (.)
 - outro animal (.)
(especificar filo, classe)
- outro, especificar

2. Nome completo

As sequências da inserção e a sua origem estão listadas na Secção C.6.(a).

As sequências do transgene (anti-CD19 e EGFRt) são derivadas de humanos, com exceção do peptídeo ligante (24 aminoácidos), o qual é derivado do vírus Thosea Asigna, e do scFv anti-CD19 que é derivado do anticorpo monoclonal IgG1 de murino FMC63.

- | | |
|--|---|
| (i) ordem e/ou táxon superior (para animais) | ... |
| (ii) nome da família para plantas | ... |
| (iii) género | Homo, Thosea, Mus |
| (iv) espécie | Homo sapiens, Thosea asigna, Mus musculus |
| (v) subespécie | ... |
| (vi) estirpe | ... |
| (vii) cultivar/linhagem | ... |
| (viii) patovar | ... |
| (ix) designação comum | ... |

3. O organismo é significativamente patogénico ou nocivo de alguma outra forma (incluindo os respetivos produtos extracelulares), seja vivo ou morto?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Se sim, especificar o seguinte:

(b) para quais dos organismos seguintes:

- seres humanos (.)
- animais (.)
- plantas (.)
- outro ..

(b) as sequências doadas estão de alguma forma envolvidas nas propriedades patogénicas ou nocivas do organismo

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Se sim, facultar a informação relevante ao abrigo do Anexo III A, ponto II(A)(11)(d):
Não aplicável.

4. O organismo dador encontra-se classificado ao abrigo das regras Comunitárias existentes relacionadas com a proteção da saúde humana e do meio ambiente, como a Diretiva 90/679/CEE relativa à proteção dos trabalhadores contra os riscos ligados à exposição a agentes biológicos durante o trabalho?

Sim (X) Não (.)

Se sim, especificar

As sequências do transgene são derivadas de humanos, com exceção do peptídeo ligante (24 aminoácidos), o qual é derivado do vírus Thosea Asigna e que está classificado como Grupo 1 de Risco. O ser humano e o ratinho não estão classificados ao abrigo das regras Comunitárias existentes.

5. O organismo dador e o recetor trocam material genético de forma natural?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

E. Informações relativas ao organismo geneticamente modificado

1. Traços genéticos e características fenotípicas do organismo recetor ou parental que tenham sido alterados em resultado da modificação genética

(a) o OGM é diferente do recetor no que respeita à capacidade de sobrevivência?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especificar

(b) o OGM é de alguma forma diferente do recetor no que respeita ao modo e/ou à taxa de reprodução?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especificar

(c) o OGM é de alguma forma diferente do recetor no que respeita à disseminação?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especificar

(d) o OGM é de alguma forma diferente do recetor no que respeita à patogenicidade?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especificar

2. Estabilidade genética do organismo geneticamente modificado

As sequências que codificam o CAR dirigido contra o CD19 são introduzidas nas células T por transdução com um lentivírus de terceira geração, incompetente para replicação, autoinativante. Devido à integração do vetor viral no genoma do hospedeiro, as sequências do CAR estarão presentes como uma parte integrante e estável do ADN do hospedeiro em células transduzidas durante o período durante o qual as células persistem após a perfusão. O transgene de CAR inserido apenas transporta o gene de expressão do CAR específico para CD19 e o EGFRt. Não possui os genes necessários para a replicação ou patogenicidade do VIH.

3. O OGM é significativamente patogénico ou nocivo de alguma outra forma (incluindo os respetivos produtos extracelulares), seja vivo ou morto?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

(a) para quais dos organismos seguintes?

Não aplicável

humanos (.)
animais (.)
plantas (.)
outro (.)

(b) facultar a informação relevante especificada no Anexo III A, ponto II(A)(11)(d) e II(C)(2)(i)

O OGM não é patogénico nem nocivo. Não foram notificadas questões de segurança inesperadas durante o desenvolvimento clínico e não clínico do CC-97540.

Além disso, o VLV anti-CD19 utilizado para a transdução dos linfócitos T autólogos é um vetor lentiviral incompetente para replicação, autoinativante. Não é capaz de replicação em células humanas e, como tal, não consegue formar uma descendência de viriões que resultaria na disseminação de um vírus replicante ou na recombinação com outros retrovírus.

O vetor lentiviral anti-CD19 utiliza um sistema de genoma dividido, de terceira geração, no qual os plasmídeos que codificam os segmentos e genes necessários para formar o vetor viral estão segregados em três plasmídeos ajudantes (*helper*) separados: a glicoproteína (não derivada de um lentivírus) do envelope encontra-se num plasmídeo, os genes *gag* e *pol* (derivados do VIH-1) noutra plasmídeo e o gene *rev* (derivado do VIH-1) num terceiro plasmídeo. O transgene está codificado num plasmídeo de transferência (derivado do VIH-1, mas autoinativante devido a uma deleção na LTR 3'). Adicionalmente, é adicionado um plasmídeo suplementar para aumentar o título do vetor lentiviral. Todas as sequências são fornecidas *in trans* por transfeção dos plasmídeos na linha celular HEK293T, que apenas permite a expressão transitória destas construções durante a fase de produção do vetor viral. O risco de formação de lentivírus competentes em termos de replicação (*replication competent lentivirus* - RCL) é ainda menor quando se retém a dependência Rev do vetor viral. O Rev é necessário para exportar o transgene do genoma de ARN do núcleo para o citoplasma para expressão das proteínas e para o empacotamento. Como o Rev é fornecido apenas *in trans* e como a proteína Rev não é empacotada no vírus, a probabilidade de um genoma de ARN lentiviral poder continuar a sua exportação nuclear em células transduzidas é altamente improvável. Por fim, a natureza autoinativante do vetor significa que a expressão da LTR é significativamente reduzida devido à deleção da LTR 3' e ausência do gene *tat* do VIH-1 (normalmente necessário para a transcrição acionada pela LTR).

O OGM é derivado de células T autólogas isoladas a partir do sangue periférico de doentes com lúpus eritematoso sistémico (LES). Com base nas condições e passos de lavagem do processo de fabrico, prevê-se que não estejam presentes quaisquer partículas infecciosas residuais do vetor lentiviral no produto farmacológico CC-97540.

Por fim, as células T não conseguem sobreviver fora do doente. As células não são patogénicas e não conseguem persistir ou replicar-se no meio ambiente ou noutros organismos. Os doentes são testados para despiste do VIH durante a seleção e excluídos do ensaio clínico se testarem positivo, eliminando assim o risco de recombinação com qualquer VLV que pudesse potencialmente permanecer no produto farmacológico.

4. Descrição dos métodos de identificação e deteção

(a) Técnicas utilizadas para detetar o OGM no ambiente

As células transduzidas com o vetor lentiviral CAR anti-CD19 (i.e., produto farmacológico CC-97540) não são libertadas no meio ambiente e não são estáveis em condições ambientais não controladas. Após a administração do produto, os doentes são monitorizados para avaliar a persistência do CC-97540 utilizando ddPCR específica para as sequências do VLV integrado.

(b) Técnicas utilizadas para identificar o OGM

Aquando da libertação do lote, utiliza-se PCR quantitativa para medir as sequências integradas do vetor e detetar a presença de células T transduzidas, e utiliza-se citometria de fluxo para confirmar a expressão e identificar as células que exprimem o CAR específico para CD19.

É utilizada uma PCR digital em gota (*digital droplet PCR* - ddPCR), validada, para derivar os dados do curso temporal da concentração sanguínea de CC-97540 nos doentes.

F. Informações relativas à libertação

1. Objetivo da libertação (incluindo quaisquer potenciais benefícios ambientais significativos que possam ser esperados)

O OGM (produto autólogo) final será perfundido num doente incluído num ensaio clínico, com o objetivo de reconhecer e lisar células B CD19+ (incluindo as células B autorreativas e plasmablastos). O objetivo da libertação consiste em conduzir um estudo de fase 2, multicêntrico, sem ocultação, com CC-97540, células T com recetor de antigénio quimérico (*chimeric antigen receptor* - CAR) NEXT-T dirigidas contra CD19, em participantes com lúpus eritematoso sistémico (LES) ativo (incluindo nefrite lúpica) com resposta inadequada a glucocorticoides e a, pelo menos, 2 imunossuppressores (LES refratário). O produto farmacológico CC-97540 não será libertado no meio ambiente. Não se preveem quaisquer efeitos significativos no meio ambiente.

É de salientar que o vetor lentiviral CAR anti-CD19 é utilizado apenas para transduzir as células T autólogas *ex vivo* em instalações de fabrico controladas e isoladas, com BPF, baseadas fora da UE.

2. O local de libertação é diferente do habitat natural ou do ecossistema no qual o organismo recetor ou parental é regularmente utilizado, armazenado ou encontrado?

Sim (.) Não (X)

Se sim, especificar

3. Informações relativas à libertação e à área envolvente

- (a) Localização geográfica (região administrativa e, quando adequado, referência da grelha):

Unidade Local de Saúde Santa Maria.
Avenida Professor Egas Moniz MB Lisbon. 1649-028. Portugal

- (b) Dimensão do centro do estudo (m²):

- (i) local de libertação real (m²):

A administração do CC-97540 irá decorrer em ambiente clínico, num quarto de hospital.

- (ii) local de libertação mais amplo (m²):

A administração do CC-97540 irá decorrer em ambiente clínico, num quarto de hospital.

- (c) Proximidade de biótipos ou áreas protegidas internacionalmente reconhecidos (incluindo reservatórios de água potável), mais passíveis de serem afetados:

Não aplicável dado que a libertação irá decorrer durante um estudo clínico, em centros de investigação.

- (d) Flora e fauna incluindo culturas, rebanhos animais e espécies migratórias que possam potencialmente interagir com o OGM

Não aplicável dado que a libertação irá decorrer durante um estudo clínico, em centros de investigação

4. Método e quantidade da libertação

- (a) Quantidades de OGM a libertar:

O OGM não se destina a ser libertado no meio ambiente. O CC-97540 será perfundido uma vez por doente, numa dose-alvo de 10×10^6 células T CAR-positivas viáveis (células T-CAR+).

- (b) Duração da operação:

Toda a operação, desde o início da descongelação (remoção da conservação em LN2 (*liquid nitrogen*)) até se completar a administração do CC-97540, tem de estar concluída no período de 2 horas.

- (c) Métodos e procedimentos para evitar e/ou minimizar a disseminação dos OGM para além do local de libertação

O medicamento experimental (ME) é administrado por via intravenosa no participante, sob as condições padrão controladas para transplante celular, no centro clínico. O CC-97540 será expedido para o centro clínico num contentor de expedição validado, antes da administração planeada ao doente, e conservado numa área de acesso restrito. O CC-97540 será descongelado no centro e administrado ao doente, por uma equipa do centro clínico com a formação adequada em relação aos procedimentos de manuseamento, descongelação, administração e reconciliação do produto. O transporte interno do ME, do ME residual e de amostras dos participantes no estudo é efetuado num recipiente passível de desinfeção, corretamente rotulado, à prova de fugas e inquebrável.

Quaisquer manipulações do produto farmacológico CC-97540 serão efetuadas de acordo com o nível adequado de contenção de risco biológico. O Promotor atribuiu um Nível de Biossegurança 1 (*Biosafety Level 1 - BSL1*) ao CC-97540, com base na avaliação do risco do produto, o qual satisfaz as condições enunciadas na Tabela 1 do documento orientador intitulado “Boas práticas na avaliação de aspetos relacionados com OGM, no contexto de ensaios clínicos com células humanas geneticamente modificadas”. Este documento orientador foi endossado pelas autoridades competentes de muitos dos Estados-Membros, incluindo a Espanha, Alemanha, França, Itália e Bélgica.

Conforme descrito neste documento, as células humanas geneticamente modificadas por vetores lentivirais não conseguem proliferar no meio ambiente. Além disso, no caso do CC-97540, o risco de formação de vírus competentes em termos de replicação ou da presença de partículas infecciosas do vetor viral no produto acabado é negligenciável. Na verdade, o Promotor reduziu o risco de formação de RCL através da conceção intencional de propriedades do vetor lentiviral (ausência de sequências homólogas entre o provírus e o WT-HIV 1/2 e o HTLV 1/2, minimizando a recombinação homóloga como mecanismo para a geração de RCL), condições durante o processo de fabrico (separação dos genes virais em múltiplos plasmídeos durante a produção do vetor viral) e controlo analítico (ausência de VIH/HTLV/RCL demonstrada nos vetores virais). Como resultado, o risco negligenciável de ocorrência de RCL definido pelo documento orientador é satisfeito. No contexto das condições delineadas na Tabela 1 do documento orientador, as células de doentes VIH positivos são excluídas através dos critérios de exclusão do protocolo do ensaio clínico; contudo, as células de doentes HTLV positivos não são excluídas do fabrico. Dado haver uma homologia de sequências mínima, o risco de geração de RCL é negligenciável no que diz respeito à coinfeção pelo HTLV. Tendo por base estes aspetos, e tendo em consideração o documento orientador acima referido, é razoável baixar o produto farmacológico acabado, CC-97540, para BSL1 no que diz respeito a atividades a jusante do fabrico do produto (i.e., após a transdução).

Antes e durante a administração ao doente, o OGM está contido em recipientes fechados; não irão decorrer quaisquer atividades em que terceiras entidades, incluindo pessoal médico, possam entrar em contacto direto com o mesmo. A administração do CC-97540 será efetuada em centros médicos especializados, equipados para a administração segura de produtos

biológicos ou celulares, e por profissionais de saúde com experiência e formação apropriada em procedimentos de higiene e normas relacionadas com a segurança e manuseamento de materiais infecciosos. O CC-97540 contém células T autólogas humanas e, por conseguinte, os profissionais de saúde devem empregar as precauções universais para a prevenção da transmissão de infeções transmitidas pelo sangue. Durante a colheita de amostras, durante a descontaminação de superfícies e áreas potencialmente contaminadas, e durante a descontaminação e eliminação de resíduos e potencial material remanescente, o pessoal médico deverá utilizar vestuário apropriado (bata, luvas, máscara, óculos de segurança). Qualquer CC-97540 parcialmente usado ou não usado (material remanescente nos recipientes), os recipientes e quaisquer consumíveis utilizados na preparação e no processo de administração, incluindo o conjunto de administração IV, têm de ser eliminados de acordo com a política de eliminação de resíduos de risco biológico da instituição para tecidos com agentes patogénicos transmitidos pelo sangue ou material de doentes potencialmente infeccioso.

Para além da limpeza e higienização padrão do quarto do hospital e da eliminação dos resíduos do produto e materiais contaminados, não é necessário qualquer tratamento particular do centro.

5. Breve descrição das condições ambientais médias (clima, temperatura, etc.)

O CC-97540 será administrado ao doente num ambiente hospitalar ou clínico, à temperatura ambiente. O ME é conservado em nitrogénio líquido na fase gasosa até à administração.

6. Dados relevantes relativos a libertações anteriores realizadas com o mesmo OGM, caso existam, sobretudo relacionados com os potenciais impactos ambientais e para a saúde humana decorrentes da libertação.

Está a decorrer uma investigação clínica com o CC-97540. Não existem dados relevantes aplicáveis em relação a potenciais impactos decorrentes de libertações anteriores realizadas com o CC-97540. O CC-97540 não consegue persistir no meio ambiente.

G. Interações do OGM com o ambiente e potencial impacto no ambiente, se significativamente diferente do organismo recetor ou parental

Esta secção não é aplicável. O organismo-alvo é o doente recetor autólogo. As células T autólogas transduzidas não são libertadas no meio ambiente.

1. Nome do organismo-alvo (se aplicável)

(i) ordem e/ou táxon superior (para animais)	<i>Homo sapiens</i> (Primatas)
(ii) nome da família para plantas	...
(iii) géneros	...
(iv) espécie	...
(v) subespécie	...
(vi) estirpe	...
(vii) cultivar/linhagem	...
(viii) patovar	...
(ix) designação comum	...

2. Mecanismo e resultado previstos da interação entre os OGM libertados e o organismo-alvo (se aplicável)

As células T-CAR CC-97540 são utilizadas para o tratamento de doentes com lúpus eritematoso sistémico (LES). Quando injetadas no doente, as células CC-97540 reconhecem e visam efetivamente as células que exprimem células B CD19+ (incluindo as células B autorreativas e plasmablastos) e, ao ligarem-se, induzem a lise de células-alvo que exprimem CD19. As células transduzidas não são viáveis em ambientes fora do indivíduo.

3. Quaisquer outras interações potencialmente significativas com outros organismos no meio ambiente

Nenhuma prevista. Uma possível interação com outros organismos, tais como o VIH, em doentes é extremamente baixa, uma vez que nenhum doente VIH+ é exposto ao CC-97540. Os participantes são selecionados antes de serem aceites no presente estudo clínico com CC-97540. Nenhum produto com CC-97540 é feito a partir de indivíduos VIH+, eliminando assim a possibilidade de recombinação do VLV com o VIH. As células transduzidas não são viáveis fora do corpo de indivíduos tratados. A persistência ou recombinação viral no meio ambiente não é possível devido à utilização de um VLV incompetente em termos de replicação. A administração do produto de OGM a pessoas imunocompetentes leva à rejeição do OGM. Resumindo, não se preveem quaisquer interações entre o CC-97540 e outros organismos no meio ambiente.

4. É provável que ocorra seleção pós-libertação como, por exemplo, um aumento da competitividade ou da invasividade do OGM?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Fornecer detalhes

5. Tipos de ecossistemas nos quais o OGM poderia disseminar-se a partir do local de libertação e nos quais poderia estabelecer-se

Não existe qualquer possibilidade de disseminar o CC-97540 do centro do estudo clínico para qualquer outro ecossistema. Todos os resíduos clínicos são destruídos de acordo com os procedimentos do hospital para a eliminação de resíduos de risco biológico.

6. Nome completo de organismos não alvo que (tendo em conta a natureza do ambiente recetor) poderão ser involuntariamente prejudicados, de forma significativa, pela libertação do OGM

Não existem quaisquer organismos não alvo que possam ser involuntariamente prejudicados, de forma significativa, pela libertação do OGM. Esta secção não é aplicável.

- | | | |
|--------|--|-----|
| (i) | ordem e/ou táxon superior (para animais) | ... |
| (ii) | nome da família para plantas | ... |
| (iii) | género | ... |
| (iv) | espécie | ... |
| (v) | subespécie | ... |
| (vi) | estirpe | ... |
| (vii) | cultivar/linhagem | ... |
| (viii) | patovar | ... |
| (ix) | designação comum | ... |

7. Probabilidade de trocas genéticas *in vivo*

- (a) do OGM para outros organismos no ecossistema de libertação:

O produto farmacológico CC-97540 é feito com um vetor incompetente em termos de replicação que insere, de forma estável, o ADN proviral que codifica o CAR no genoma de células T autólogas. O transgene do CAR anti-CD19 não é capaz de mobilização ou amplificação. Por conseguinte, a transferência de genes para organismos fortuitos não está prevista e é extremamente baixa pelas seguintes razões:

- 1) Os potenciais riscos para os indivíduos tratados incluem o risco teórico de geração de um lentivírus competente em termos de replicação (RCL). Contudo, é importante notar que todos os genes virais responsáveis pela patogenicidade e replicação do VIH foram removidos da sequência proviral, e substituídos por transgenes terapêuticos, tornando assim o risco de RCL negligenciável. Nenhuma partícula viral nova pode ser constituída e libertada a partir da célula hospedeira final, devido à ausência de todas as proteínas acessórias, nesta forma proviral, que conferem infecciosidade e potencial replicativo ao lentivírus.
- 2) Nenhum doente VIH+ será exposto ao CC-97540. Os participantes são selecionados antes de serem aceites no estudo clínico planeado. Os indivíduos VIH positivos são excluídos de participarem no estudo. Nenhum produto de CC-97540 é feito a partir de indivíduos VIH positivos, eliminando assim a possibilidade de recombinação das sequências provirais inseridas com o VIH.

(b) de outros organismos para o OGM:

O produto farmacológico CC-97540 irá existir na forma de células T diferenciadas no indivíduo. Apesar de haver sempre a possibilidade de indivíduos humanos serem infetados com outros organismos, não existe um risco acrescido para o indivíduo dado que o OGM não codifica quaisquer genes virais ou patogénicos.

(c) consequências prováveis da transferência de genes:

Uma vez criado o produto farmacológico CC-97540, não se preveem mais transferências de genes.

8. Indicar referências dos resultados relevantes (se disponíveis) de estudos sobre o comportamento e as características do OGM e do respetivo impacto ecológico, realizados em ambientes naturais estimulados (por ex., microcosmos, etc.):

Não aplicável. Não foram efetuados quaisquer estudos sobre o comportamento e as características do OGM e do respetivo impacto ecológico, realizados em ambientes naturais estimulados (por ex., microcosmos, etc.).

9. Possíveis interações ambientalmente significativas com processos biogeoquímicos (se diferentes do organismo recetor ou parental)

Não aplicável.

H. Informações relativas à monitorização

1. Métodos para a monitorização dos OGM

Após a perfusão no indivíduo, as células T-CAR positivas serão detetadas utilizando um método à base de PCR para quantificar o transgene CAR.

2. Métodos para a monitorização dos efeitos no ecossistema

Não aplicável. O produto farmacológico CC-97540 não é libertado no meio ambiente. Além disso, o produto farmacológico (células T-CAR autólogas) não é capaz de sobreviver no meio ambiente.

3. Métodos para a deteção da transferência do material genético doado do OGM para outros organismos

Não aplicável. O produto farmacológico CC-97540 não é libertado no meio ambiente. Não se prevê que haja material genético doado a outro organismo que não o doente para o qual o produto foi especificamente fabricado. Caso ocorra semelhante transferência, poderá utilizar-se a PCR descrita na secção E.4. para detetar e identificar o OGM. Além disso, a administração do produto de OGM a um humano imunocompetente, que não seja o doente autólogo, leva a uma rejeição das células do OGM mediada pelo sistema imunitário.

4. Dimensão da área de monitorização (m²)

Não aplicável. O produto farmacológico CC-97540 não é libertado no meio ambiente. Além disso, o produto farmacológico CC-97540 (células T-CAR autólogas) não é capaz de sobreviver no meio ambiente.

5. Duração da monitorização

Todos os indivíduos que recebem CC-97540 serão monitorizados até à conclusão do estudo, perda durante o seguimento ou à retirada do consentimento, em termos de toxicidades retardadas relacionadas com o CC-97540, segurança do vetor viral, estado da doença, estado de sobrevivência, terapêuticas subsequentes para o lúpus, etc., todos os meses durante o primeiro ano, a cada 3 meses durante o segundo ano e depois anualmente até ao fim do ensaio (5 anos após a administração de CC-97540). Daí em diante, será pedido aos indivíduos que entrem num protocolo de seguimento a longo prazo, separado, GC LTFU 001, durante um total de 15 anos após a última perfusão do produto farmacológico.

6. Frequência da monitorização

Todos os acontecimentos adversos (AA) e acontecimentos adversos graves (AAG) serão coligidos a partir do momento em que o consentimento é assinado, incluindo aqueles que se pensa estarem associados a procedimentos especificados pelo protocolo, e até 90 dias após a perfusão de CC-97540. A partir de 90 dias após a perfusão de CC-97540 até ao fim do estudo, apenas os seguintes AA serão coligidos:

- Todos os AA e AAG que se suspeita estarem relacionados com o CC-97540 ou com procedimentos do estudo
- Todas as doenças malignas novas, independentemente da relação com o CC-97540 ou com procedimentos do estudo

Irá efetuar-se a monitoriza o do OGM por ddPCR nos Dias 1, 4, 8, 11, 15, 22, 29, 57, 85, 169, 253, 337, 505, 673, 841, 1009, 1177, 1345, 1513, 1681, e na altura de uma crise durante os primeiros cinco anos após a perfusão. Após a visita para o D1681, será pedido aos indivíduos para entrarem num estudo de seguimento a longo prazo, no qual serão efetuados testes por qPCR/ddPCR a cada 6 meses, desde que o transgene permaneça detetável durante 2 visitas consecutivas, e depois anualmente até 15 anos no estudo de seguimento a longo prazo.

I. Informa es sobre o tratamento pós-liberta o e o tratamento de resíduos

1. Tratamento do centro p s-liberta o (EHS, RCO)

O quarto da institui o médica será submetido a limpeza e higieniza o padrão, de acordo os procedimentos da institui o. Qualquer ME não usado e materiais que entraram em contacto com o ME devem ser eliminados de acordo com a política de elimina o de resíduos de risco biológico da institui o referente a material clínico perigoso e a organismos geneticamente modificados (OGM). Estes procedimentos e medidas de conten o irão assegurar o manuseamento seguro e a preven o de qualquer libera o no meio ambiente.

2. Tratamento pós-liberta o dos OGM (EHS, RCO)

Não   aplicável qualquer tratamento pós-liberta o dos OGM, além da elimina o dos resíduos do produto e dos materiais contaminados, conforme descrito em 1.1. As células T humanas requerem solu es complexas, controlos ambientais e físicos para conseguirem sobreviver fora do corpo humano. Sem estes controlos no meio ambiente em geral, as células T humanas não conseguem sobreviver.

3. (a) Tipo e quantidade de resíduos gerados (EHS, RCO)

Qualquer produto parcialmente não usado (remanescente no(s) recipiente(s) do produto) e materiais usados para a administra o do CC-97540, incluindo o(s) recipiente(s) do produto, conjuntos de administra o IV e quaisquer consumíveis utilizados na prepara o que tenham estado em contacto com o CC-97540.

3. (b) Tratamento de resíduos (EHS, RCO)

Qualquer ME não usado e materiais potencialmente contaminados, após a administra o, têm de ser eliminados de acordo com a política de resíduos de risco biológico da institui o referente a material clínico perigoso, e de acordo com as medidas de segurança para a elimina o de resíduos de risco biológico da institui o em vigor para agentes patog nicos transmitidos pelo sangue ou para material de doentes potencialmente infecciosos.

J. Informa es sobre planos de emergência (EHS, RCO)

1. Métodos e procedimentos para o controlo da dissemina o do(s) OGM em caso de dissemina o inesperada

Estão implementadas políticas e procedimentos padrão nos hospitais e nas instituições de investigação para o tratamento de resíduos médicos que poderão conter agentes patogénicos transmitidos pelo sangue. O CC-97540 (produto farmacológico) não é viável no meio ambiente fora do corpo do doente tratado. Não é possível ao produto farmacológico disseminar-se no meio ambiente.

De salientar que o vetor lentiviral CAR anti-CD19 é utilizado apenas para transduzir as células T autólogas *ex vivo* num centro de fabrico, controlado e isolado, com BPF, e degrada-se rapidamente no meio ambiente.

2. Métodos para a remoção do(s) OGM(s) das áreas potencialmente afetadas **(EHS, RCO)**

Em caso de derrame accidental de CC-97540 (produto farmacológico), a descontaminação é efetuada de acordo com os procedimentos em caso de derrame do hospital, tais como utilizar equipamento de proteção individual, cobrir o derramamento com um produto absorvente, aplicar um desinfetante aprovado pelo hospital durante o tempo de contacto apropriado e eliminar os resíduos como sendo de risco biológico. A equipa de estudo no centro que estará envolvida na administração do produto farmacológico em estudo, receberá formação completa de acordo com os requisitos do estudo e os procedimentos do hospital.

3. Métodos para a eliminação ou saneamento de plantas, animais, solos, etc. que possam ter sido expostos durante ou após a disseminação **(EHS, RCO)**

Não haverá plantas, animais ou solos na unidade de transplante onde o CC-97540 será administrado ao indivíduo.

4. Planos para proteger a saúde humana e o ambiente no caso da ocorrência de efeitos indesejáveis **(EHS, RCO)**

O produto farmacológico CC-97540 (células transduzidas) e o vetor lentiviral CAR anti-CD19 não codificam quaisquer genes patogénicos. As células transduzidas não são viáveis fora do corpo dos indivíduos tratados. O vetor lentiviral utilizado para fabricar o CC-97540 degrada-se rapidamente no meio ambiente. A administração do OGM a pessoas imunocompetentes leva à rejeição das células. Por conseguinte, não se preveem quaisquer efeitos indesejáveis.