

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA
LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS
GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS
SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA
DIRECTIVA 2001/18/CE**

Laboratorios del Dr. Esteve, S.A.
Av. Mare de Déu de Montserrat, 221
08041 Barcelona

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/14/09
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	04/11/14
d) Título del proyecto:	Ensayo clínico de fase I/II de búsqueda de dosis para establecer la seguridad, tolerabilidad y eficacia inicial del producto de terapia génica AAV9 - hSulfamidasa tras su administración a dosis únicas por vía intracerebroventricular a pacientes con Mucopolisacaridosis tipo IIIA (Síndrome de Sanfilippo A)
e) Período propuesto para la liberación:	Desde Septiembre de 2015 hasta Mayo 2016.

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Laboratorios del Dr. Esteve, S.A. Av. Mare de Déu de Montserrat, 221 08041 Barcelona
-------------------------------------	--

3. Definición de la OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> AAV recombinante no replicativo
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase):	
El vector recombinante adeno-asociado humano de serotipo 9 (AAV9) que codifica para la Sulfamidasa humana es un producto innovador con una indicación propuesta para el tratamiento de la Mucopolisacaridosis tipo IIIA (Síndrome de Sanfilippo A).	

b) Identidad del OMG (género y especie)

Familia: Parvoviridae

Género: Dependovirus

Especie: Virus adeno-asociado (AAV) recombinante sin capacidad de replicar

El nombre completo del vector recombinante es *AAV9-CAG-coh-SGSH* (o *AAV9-hSulfamidasa*).

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

La estabilidad genética del vector es equivalente a la del tipo silvestre de AAV, sin embargo, como su replicación es deficiente la estabilidad tras la replicación no es relevante. La estabilidad genética de los stocks de Baculovirus utilizadas para la fabricación del OMG es confirmada en cada pase mediante qPCR y secuenciación. La estabilidad genética de los lotes utilizados en el ensayo clínico se verificará mediante la técnica anteriormente mencionada.

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país:	

5. Ha notificado ese mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

6. Ha notificado el mismo notificador u otro la liberación o comercialización de ese mismo OMG fuera de la Comunidad?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: - Número de la notificación:	

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

Los virus AAV9 son virus adeno-asociados no patógenos que han sido aislados por técnicas de biología molecular de tejidos humanos. El OMG ha sido generado a partir de los AAV9 modificando su contenido genético eliminando todas los genes codificantes para proteínas virales. En este proceso el OMG generado, *AAV9-hSulfamidasa*, pierde toda capacidad replicativa.

Los AAV9, así como los vectores derivados de éstos, tienen capacidad para infectar células de mamífero, pero no células vegetales. Así pues, el uso de *AAV9-hSulfamidasa* representa un insignificante riesgo para la flora. Respecto a los efectos en la fauna, al no mostrar un patrón patogénico no representaría un riesgo ambiental.

Por otro lado se espera una excreción limitada del OMG en aguas residuales en los primeros días tras la administración de los pacientes; sin embargo, el agua residual no es un ecosistema donde el vector pueda persistir y diseminarse.

Debido estas características, la probabilidad que haya un intercambio de material genético con otros microorganismos es casi nula y la liberación de los OMG no representarían un riesgo ambiental.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es:

- Viroide
- Virus ARN
- Virus ADN
- Bacteria
- Hongo
- Animal
 - mamíferos
 - insectos
 - peces
 - otro animal (especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): Parvoviridae
ii) Género: Dependovirus
iii) Especie: Virus adeno-asociado
iv) Subespecie:
v) Cepa: Serotipo 9
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: AAV9

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él: Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos: i) Sí <input checked="" type="checkbox"/> En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra: Un porcentaje muy alto de la población mundial (entre el 30-80%) es seropositiva para al menos un serotipo del virus AAV. En algunos estudios se estima que aproximadamente el 50% de población es seropositiva para AAV9. Atlántico <input checked="" type="checkbox"/> Mediterráneo <input checked="" type="checkbox"/> Boreal <input checked="" type="checkbox"/> Alpino <input checked="" type="checkbox"/> Continental <input checked="" type="checkbox"/> Macaronésico <input checked="" type="checkbox"/> ii) No <input type="checkbox"/> iii) No se sabe <input type="checkbox"/>

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica? Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/>

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo: Agua <input type="checkbox"/> Suelo, en libertad <input type="checkbox"/> Suelo, en simbiosis radicales de plantas <input type="checkbox"/> En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas <input type="checkbox"/> En simbiosis con animales <input type="checkbox"/> Otros , (especifiquense): Los AAV se han aislado de tejidos humanos y de primates no humanos, pero también otros animales pueden ser huéspedes. Específicamente, el AAV9 ha sido aislado de tejidos humanos.
b) Si es un animal, hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No aplica.

5.a) Técnicas de detección

Técnicas de PCR específica para detectar el ADN del vector.

5.b) Técnicas de identificación

Técnicas de PCR específica que detectan el ADN del vector y secuenciación.
--

6. Está clasificado el organismo receptor con arreglo a las normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: Los virus AAV no se han asociado a ninguna enfermedad conocida y, por tanto, se consideran virus no patógenos. Por ese motivo, tanto los virus AAV como los vectores recombinantes AAV se clasifican como nivel de bioseguridad de la clase o grupo I (riesgo nulo o insignificante).	

7. ¿Es el organismo receptor, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:		
humanos	<input type="checkbox"/>	
animales	<input type="checkbox"/>	
plantas	<input type="checkbox"/>	
otros	<input type="checkbox"/>	
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE. Los vectores adeno-asociados no son patogénicos, virulentos, alergénicos o vectores portadores de un patógeno. El rango de huéspedes más conocidos incluye humanos y primates no humanos.		

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: No relevante. El vector recombinante <i>AAV9-hSulfamidasa</i> no es replicativo.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: No relevante. El vector recombinante <i>AAV9-hSulfamidasa</i> no es replicativo.
c) Modo de reproducción <div style="display: flex; justify-content: space-around;">Sexual <input type="checkbox"/>Asexual <input checked="" type="checkbox"/></div>

d) Factores que afectan a la reproducción:
Para la replicación, los virus silvestres AAV requieren que la célula huésped esté co-infectada con un virus *helper* o ayudante (como por ejemplo adenovirus o herpesvirus).

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo

(i) endosporas	<input type="checkbox"/>
(ii) quistes	<input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
(vi) huevos	<input type="checkbox"/>
(vii) pupas	<input type="checkbox"/>
(viii) larvas	<input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifiquense)	Ninguna

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia
Los virus AAV silvestres pueden ser inactivados por virucidas comerciales (como por ejemplo, Limoseptol 1,25%), solución 1% de hipoclorito sódico (al menos por 10 minutos), una solución 5% de fenol, SDS al 0,25%, radiación UV, altas temperaturas (>80°C durante 60 minutos) y pHs extremos (<2 y >12).

10.a) Vías de diseminación

El tipo silvestre de AAV se transmite entre humanos por vía respiratoria (transmisión aérea), vía fecal-oral (transmisión digestiva), por contacto directo del virus con la conjuntiva de los ojos o las mucosas y por transmisión sexual (fluido seminal). Es la primera vez que se utiliza el vector AAV9-hSulfamidasa en humanos. Basado en estudios en animales, no se espera encontrar restos del vector después de 30 días de la administración.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

En los estudios realizados hasta la fecha con los AAV y vectores recombinantes se ha detectado secreción de vectores en orina, saliva, heces y semen. Sin embargo, la detección de partículas virales por PCR no implica que los vectores secretados sean infectivos.

11. Modificaciones genéticas previas del organismo receptor o parental de las que ya se ha notificado la liberación en el país notificador (se darán los números de la notificación)

No aplica.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
ii) Eliminación de material genético	<input checked="" type="checkbox"/>
iii) Sustitución de una base	<input type="checkbox"/>
iv) Fusión celular	<input type="checkbox"/>
v) Otro (especifíquese)	

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El *AAV9-hSulfamidasa* es un vector recombinante derivado del virus adenoasociado de serotipo 9 (AAV9) que ha sido modificado por ingeniería genética. Para su construcción, se ha eliminado la secuencia codificadora de las proteínas virales del organismo receptor AAV9 y se ha sustituido por el *cassette* de expresión que contiene la secuencia codificante optimizada de la enzima Sulfamidasa humana (SGSH) y las secuencias regulatorias necesarias para la expresión de la proteína. La eliminación de la secuencia proteica completa del AAV9 permite que el OMG resultante, *AAV9-hSulfamidasa*, no tenga capacidad replicativa.

3.a) ¿Se ha usado un vector en el proceso de modificación?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5.	

3.b) En caso afirmativo, ¿está presente el vector, total o parcialmente, en el organismo modificado?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso negativo, pase a la pregunta 5	

4. Si ha contestado afirmativamente a la pregunta 3 b), aporte la información siguiente

<p>a) Tipo de vector</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="padding: 5px;">plásmido</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">bacteriófago</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">virus</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">cósmido</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Elemento de transposición</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding: 5px;">Otros (especifíquense):</td> </tr> </table>	plásmido	<input type="checkbox"/>	bacteriófago	<input type="checkbox"/>	virus	<input checked="" type="checkbox"/>	cósmido	<input type="checkbox"/>	Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>	Otros (especifíquense):	
plásmido	<input type="checkbox"/>											
bacteriófago	<input type="checkbox"/>											
virus	<input checked="" type="checkbox"/>											
cósmido	<input type="checkbox"/>											
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>											
Otros (especifíquense):												
<p>b) Identidad del vector: Baculovirus</p>												
<p>c) Gama de organismos huéspedes del vector: Células de insecto (Células Sf9) ya que los Baculovirus sólo infectan a invertebrados.</p>												
<p>d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="padding: 5px;">Sí <input type="checkbox"/></td> <td style="text-align: right; padding: 5px;">No <input checked="" type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">Resistencia a los antibióticos</td> <td style="text-align: right; padding: 5px;"><input type="checkbox"/></td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding: 5px;">Otras, (especifíquense)</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="padding: 5px;">Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:</td> </tr> </table>	Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>	Otras, (especifíquense)		Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:					
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>											
Resistencia a los antibióticos	<input type="checkbox"/>											
Otras, (especifíquense)												
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:												
<p>e) Fragmentos constituyentes del vector Dos construcciones de Baculovirus diferentes conteniendo las secuencias requeridas para la generación y fabricación de AAV9-hSulfamidasa: Baculovirus Rep2Cap9 y Baculovirus SGSH.</p>												

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección Co-infección simultánea en las células Sf9 con 2 Baculovirus diferentes que contienen las secuencias para la generación del OMG.
- vi) otros, (especifíquense)

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

- i) transformación
- ii) microinyección
- iii) macroencapsulación
- iv) macroinyección
- v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El material genético (genoma) que se introduce dentro del organismo receptor (AAV9) tiene varios componentes con distinto origen biológico.

En primer lugar, el genoma está flanqueado por secuencias de ADN del virus adeno-asociado humano de serotipo 2 llamadas *inverted terminal repeats* (ITR). Estas secuencias son necesarias para poder encapsidar el genoma dentro de las cápsides del AAV9 durante el proceso de producción del OMG.

En segundo lugar, el genoma consta de un *cassette* de expresión con promotor, secuencia codificante para la Sulfamidasa humana y señal de poliadenilación (PolyA), ya que se pretende expresar el gen de interés en las células transducidas por el OMG.

El promotor del constructo es un promotor híbrido y ubicuo (CAG), formado por el *enhancer* de citomegalovirus (CMV) y el promotor de la β -actina de pollo. La secuencia codificante que se pretende expresar corresponde a la Sulfamidasa humana, un enzima importante para la degradación del heparan sulfato en las células de mamífero. Se ha optimizado la secuencia de codones para conseguir una expresión más óptima. Y, por último, la señal de poliadenilación proviene de la β -globina de conejo.

Las secuencias ITR, CAG, y de poliadenilación escogidas han sido ampliamente testadas en animales y humanos previamente.

A continuación pueden observar una representación esquemática del fragmento de inserción:



b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:

- ITRs: AAV de serotipo 2
- Promotor CAG: promotor híbrido con secuencias del *enhancer* del citomegalovirus humano (CMV) y secuencia promotora del gen β -actina de pollo
- Secuencia codificante con codones optimizados: ADN de origen sintético que codifica para la Sulfamidasa humana (SGSH)
- Secuencia poliadenilación (PolyA): proviene del gen de la β -globina de conejo

<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <ul style="list-style-type: none">- ITRs de serotipo AAV2: estas secuencias que flanquean el genoma del AAV recombinantes permiten encapsidar el genoma dentro de las cápsides del AAV9 durante el proceso de producción del OMG.- Promotor CAG: esta secuencia permite la expresión del gen de interés en las células transducidas por el OMG. Este promotor es un promotor híbrido formado por el <i>enhancer</i> de Citomegalovirus (CMV) y el promotor de la β-actina de pollo que permite un inicio de la transcripción- Secuencia codificante de la Sulfamidasa humana: es necesaria para poder producir la proteína Sulfamidasa, enzima importante para la degradación del heparan sulfato en las células de mamífero.- Señal de poliadenilación (PolyA): permite el control de la terminación de la transcripción. <p>Las secuencias ITR, CAG, y de poliadenilación escogidas han sido ampliamente testadas en animales y humanos previamente.</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <ul style="list-style-type: none">- en un plásmido libre <input type="checkbox"/>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/>- Otros especifíquense): El fragmento insertado reemplaza por completo al genoma del organismo receptor (AAV9 silvestre).
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>En caso afirmativo , especifíquese:</p>

D. Información sobre el organismo u organismos de los que se deriva el fragmento de inserción (donante)

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input checked="" type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
	Se considera como principal componente del fragmento de inserción a la secuencia codificante para la Sulfamidasa humana dado que es la única secuencia del OMG que puede ser convertida en una proteína con función biológica una vez liberado el OMG.
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primate
ii) Familia (plantas):
iii) Género: Homo
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Humano

3. ¿Es el organismo vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier otra forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese		
(a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
(b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, proporcione la información pertinente de conformidad con la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del Anexo III A:		

4. ¿Está clasificado el organismo donante con arreglo a normas comunitarias vigentes en relación con la protección de la salud humana y el medio ambiente como, por ejemplo, la Directiva 90/679/ CEE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: No aplica.	

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
--	-----------------------------	-------------------------------------

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

<p>a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: El OMG no tiene capacidad de replicarse en la célula huésped transducida, ni siquiera en presencia de un virus <i>helper</i> (adenovirus o herpesvirus). Durante la generación del OMG, el genoma del organismo receptor (AAV9) necesario para la replicación ha sido sustituido por el <i>cassette</i> de expresión de la Sulfamidasa humana, resultando en un OMG no replicativo.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Como el OMG no tiene capacidad de replicar, la diseminación queda limitada a la administración del OMG al paciente.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Como no hay secuencias donantes patógenas en el <i>cassette</i> de expresión para la Sulfamidasa humana y el organismo receptor (AAV silvestre) tampoco lo es, no habrá diferencias de patogenicidad. En cualquier caso se debe destacar que el OMG es un vector de terapia génica no integrativo ni replicativo.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

La identidad del genoma del OMG se comprueba durante el proceso de producción a través de varios controles que demuestran la identidad del vector (qPCR y secuenciación). De la misma manera que el AAV9 silvestre, el AAV recombinante mantiene el genoma de forma estable. Además, debido a la incapacidad de replicar del OMG generado, y de no presentar mecanismos intrínsecos para la variación genética, se consideran unos organismos genéticamente estables.

3. ¿Es el OMG, vivo o muerto (incluidos sus productos extracelulares), apreciablemente patógeno o nocivo de cualquier forma?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		
<p>Punto 11 de la letra A de la sección II (d) del Anexo IIIA: los vectores recombinantes AAV son capaces de infectar células de humano y animales pero no son patogénicos, toxicogénicos, virulentos, alergénicos o vectores de un patógeno. No son capaces de replicar y, consecuentemente, no puede formar colonias en otros organismos.</p> <p>Punto 2 de la letra C de la sección II (i) del Anexo IIIA: En referencia a la salud humana, animal así como aspectos fitosanitarios humanos, el OMG generado no presenta efectos tóxicos o alergénicos. El vector recombinante AAV no es patogénico y no presenta capacidad de colonizar, a pesar de que puede persistir en las células infectadas en forma episomal formando concatámeros.</p>		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente: PCR específica para el genoma del OMG
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: PCR específica para el genoma del OMG y secuenciación.

F. Información sobre la liberación

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

El objetivo de la liberación es la realización del ensayo clínico de fase I/II de administración única de *AAV9-hSulfamidasa* a seis pacientes diagnosticados de Mucopolisacaridosis tipo IIIA (Síndrome de Sanfilippo A).
No hay beneficio esperado sobre el medioambiente.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: <i>AAV9-hSulfamidasa</i> será administrado por vía intracerebroventricular a seis pacientes que estarán hospitalizados en el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona.	

3. Información relativa a la liberación y a la zona circundante

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>Este OMG se administrará por vía intracerebroventricular a 6 pacientes que serán hospitalizados en el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona.</p> <p>Hospital Sant Joan de Déu Passeig Sant Joan de Déu, 2 08950 Esplugues de Llobregat Barcelona</p> <p>La excreción del OMG se realizará por orina, saliva, heces o semen durante algunos días (sin superar los 30 días); sin embargo, el vector <i>AAV9-hSulfamidasa</i> excretado no se espera que sea infeccioso.</p>
<p>b) Área del lugar (m²):</p> <p>La administración de todos los pacientes se realizará en el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona. Específicamente, la administración se realizará en el Quirófano de Neurocirugía (procedimiento estándar de punción intracerebroventricular). Tras la administración, el paciente será transferido a la UCI durante las primeras 24 horas. Posteriormente, el/la paciente permanecerá ingresado en el hospital durante 7 – 10 días.</p> <p>(i) lugar real de la liberación (m²): No aplica</p> <p>(ii) área de liberación más amplia (m²): No aplica</p> <p>Es importante tener en cuenta que el vector recombinante utilizado, <i>AAV9-hSulfamidasa</i>, no es patógeno.</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>En la comarca donde está ubicado el hospital se encuentra la reserva natural del Delta del Llobregat.</p>

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:
Los AAV9, así como los vectores derivados de éstos, tienen capacidad para infectar células de mamífero, pero no células vegetales.
Por otro lado se espera sólo una excreción limitada del OMG en aguas residuales en los primeros días tras la administración a los pacientes, sin embargo el agua residual no es un ecosistema en el que el vector pueda persistir.
Debido estas características, y a que el OMG no puede replicarse lo cual impide su propagación en el medio ambiente, no se espera que haya una interacción con la flora y fauna, o ganado o especies migratorias.

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:
Este es el primer ensayo clínico en el que se administrará un *AAV9-hSulfamidasa* en humanos. Se van a administrar dos niveles de dosis a dos cohortes de tres pacientes cada una, esto es, el estudio comprende la inclusión de un total de 6 pacientes. Los tres pacientes de la primera cohorte recibirán una dosis única total de $6.8E13$ genomas virales. En función de los resultados de esta dosis será incrementada al doble o reducida a la mitad, de manera que los tres pacientes de la segunda cohorte podrán recibir una dosis única total de $1.4E14$ genomas virales o $3.4E13$ genomas virales.

Es posible que se produzca la excreción del vector en fluidos biológicos durante algunos días tras la administración siempre tratándose de pequeñas cantidades.

b) Duración de la operación:
El OMG se liberará durante la realización de una intervención quirúrgica en el Quirófano de Neurocirugía del Hospital Sant Joan de Déu. El tiempo estimado de liberación no superará una hora.

(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:
Todo el personal involucrado trabajará con buenas prácticas de bioseguridad durante el transporte, antes y después de la administración y durante la disposición de los desechos.

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

La liberación se realizará en las instalaciones del Hospital Sant Joan de Déu. Se trata de un entorno sanitario libre de humos en el que se utiliza un sistema de climatización que mantiene una temperatura de $23-25^{\circ}\text{C}$ en habitaciones y de $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ en quirófano.

7. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

El OMG *AAV9-hSulfamidasa* no ha sido liberado anteriormente. Sin embargo cabe recordar que ni el organismo receptor (*AAV9* silvestre) ni el OMG son patogénicos y que el fragmento donante (secuencia codificante para la Sulfamidasa humana) media la producción de una proteína sin efectos tóxicos conocidos. No se han informado repercusiones negativas sobre el medio ambiente o la salud humana tras la liberación de OMG de características similares (vectores *AAV* derivados de virus *AAV* silvestre de serotipos 2, 5 y 8).

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo objeto de investigación (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales): Primate
ii) Familia (plantas):
iii) Género: Homo
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecies:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/Línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: Humano

2. Mecanismo previsto y resultado de la interacción entre los OMG liberados y el organismo diana (si procede)

El OMG se usa como medicamento de terapia génica para tratar enfermos de Sanfilippo (MPS IIIA), cuya descripción fisiopatológica es la no funcionalidad de la proteína Sulfamidasa. Esta enzima está involucrada en el catabolismo del heparan sulfato y la no funcionalidad proteica genera una acumulación del heparan sulfato con efectos deletéreos. Cuando el OMG se administre a los pacientes, se espera que el material genético contenido en el OMG se transfiera a las células del paciente, y que en ellas se sintetice la proteína humana Sulfamidasa. Si se restituye los niveles de la proteína Sulfamidasa se espera una normalización de los niveles proteicos y del metabolismo del heparan sulfato y una mejora en las manifestaciones clínicas de la enfermedad. El genoma del OMG se mantiene en las células huésped sin integrarse, formando concatámeros y manteniéndose de forma episomal.

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

Ninguna significativa

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor. un carácter más invasivo, etc.?

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: El OMG no tiene capacidad replicativa; por ese motivo se espera que el OMG no se disemine y tampoco se seleccione.		

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

Las zonas de liberación del OMG en el ambiente hospitalario se tratarán adecuadamente.
El OMG puede ser excretado en aguas residuales por los pacientes (posteriormente a la inoculación) pero es poco probable que mantenga la capacidad infectiva y, debido a su deficiencia de capacidad replicativa, no se espera ningún tipo de consecuencias en este sistema.

6. Nombre completo de los organismos que no son el organismo diana, pero que (teniendo en cuenta la naturaleza del medio ambiente receptor) pueden sufrir accidentalmente daños importantes por la liberación del OMG

Ninguno

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Familia (plantas):
iii) Género:
iv) Especie:
v) Subespecie:
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar
ix) Nombre vulgar:

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:

No esperado.

El OMG que se libere al medio ambiente es poco probable que mantenga la capacidad infectiva y, debido a su deficiencia de capacidad replicativa, no se espera ningún tipo de diseminación.

Si se libera alguna partícula infectiva del OMG podría transferir el genoma a cualquier mamífero. Aun así, no hay efectos tóxicos descritos derivados de la actividad biológica de la enzima Sulfamidasa en ninguna especie.

b) De otros organismos al OMG:

Improbable.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Ninguna a destacar (el OMG no aporta ni ventajas ni desventajas selectivas).

8. Referencias de los resultados pertinentes (si los hay) de estudios sobre el comportamiento y las características del OMG sobre su repercusión ecológica llevados a cabo en ambientes naturales simulados (por ejemplo, microcosmos, etc.)

No existen estudios específicos.

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

Ninguna.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se evaluará la posible excreción del OMG en fluidos biológicos del paciente tratado de acuerdo al protocolo de estudio que contempla la recogida de sangre, saliva, orina y heces de manera regular hasta demostrar la negatividad en dos muestras consecutivas. Se utilizará un método de PCR cuantitativa específica para el vector.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No aplica.

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

No aplica.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No aplica.

5. Duración del seguimiento

El seguimiento de detección del OMG en fluidos biológicos de pacientes tratados se realizará regularmente según el protocolo del estudio hasta conseguir la negatividad en dos muestras consecutivas.

6. Frecuencia del seguimiento

El seguimiento de detección del OMG en fluidos biológicos de pacientes tratados se realizará a de manera regular hasta demostrar la negatividad en dos muestras consecutivas.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Descontaminación con desinfectantes virucidas de acuerdo a los protocolos de desinfección de la comisión de infecciosas del Hospital Sant Joan de Déu. (http://www.hsjdbrn.org/polymitaImages/public/comites/infeccions/2014_03_11_p_rotocolo_antisepticos_desinfectantes.pdf)

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los residuos biológicos y material en contacto con el OMG será eliminado según el plan de gestión del centro para residuos sanitarios de riesgo III. Se realizará una descontaminación de superficies según el protocolo de desinfección de la comisión de infecciosas para eliminación de agentes virales (Limoseptol 1,25%).

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Material quirúrgico utilizado en la administración de virus, elementos de protección del personal y cuidadores. Jeringas, agujas utilizadas para la administración del virus y toma de muestras del paciente. Fluidos y material biológico del paciente. No se puede estimar un volumen, pero por las características del ensayo con un bajo número de pacientes, se espera un pequeño volumen de residuos que serán eliminados de forma controlada.

3(b) Tratamiento de residuos

Todo el material en contacto directo con el OMG (viales, agujas, jeringas, guantes, etc.) serán depositados en un contenedor de residuos peligrosos tipo III. Una vez cerrados los contenedores de forma hermética serán transportados a una sala de residuos de riesgos dentro del recinto de residuos del Hospital. Cada 48 horas, un camión autorizado de la empresa gestora de residuos de riesgo transporta los contenedores a una planta esterilizadora.

Todas las superficies que potencialmente hubieran podido entrar en contacto con el agente serán desinfectadas con Limoseptol (glutaraldehído al 1,25% con cloruro de benzalconio).

Las gasas, toallas desechables y residuos clínicos generados en la intervención quirúrgica se depositarán en bolsas negras en contenedores especiales que serán incinerados.

En las habitaciones de UCIP y Hospitalización se realizará también una desinfección con aldehídos eliminándose los residuos biológicos en contenedores de riesgo biológico. Las sábanas y ropa no desechable seguirán un protocolo de desinfección específico (lavado durante 15 minutos a una temperatura de 85°C seguido por un ciclo de lavado a temperatura inferior y un secado en calandra a 160°C).

Las muestras biológicas procesadas en el laboratorio clínico se eliminarán en contenedores de riesgo biológico.

Los cuidadores de los pacientes serán informados de las medidas de desinfección y tratamiento de residuos biológicos: desinfección de superficies, sanitarios y ropa contaminada con aldehídos o lejía diluida.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

1. Métodos y procedimientos de control de la diseminación del OMG o de los OMG en caso de dispersión imprevista

En caso de vertido accidental todo el personal de la zona deberá protegerse con mascarillas quirúrgicas, guantes y batas desechables siguiendo el criterio de las buenas prácticas clínicas (aunque toda esta indumentaria no sea requerida para la manipulación del OMG del tipo I). Se aislará la zona con cierre de puertas y notificación de la incidencia. Se seguirá el protocolo de actuación en caso de vertido accidental de producto biológico del Servicio de Prevención y Medio Ambiente del Hospital que incluye el uso de material absorbente y desinfectantes para contener el derrame. El material derramado, así como los guantes, batas y mascarilla, será considerado residuo biopeligroso tipo III y como tal será eliminado. En caso de lesión, la herida será desinfectada con antisépticos.

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

El protocolo de descontaminación incluye el uso de material absorbente para contener el derrame, su eliminación en contenedor de riesgo biológico y la desinfección de las superficies con aldehídos.

3. Métodos de eliminación o saneamiento de plantas, animales, suelos, etc. que pudieran ser expuestos al organismo durante la dispersión o después de la misma

No aplica.

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

Se realizará un seguimiento exhaustivo de los pacientes de 5 años de duración según el protocolo del ensayo clínico. Los efectos adversos serán registrados y evaluados por los investigadores del ensayo clínico y se notificarán a las autoridades sanitarias cuando sean relevantes. No se consideran planes específicos para el medio ambiente debido a que se espera una eliminación muy residual al mismo y porque el OMG utilizado es no replicativo con lo cual no se espera tampoco su diseminación. Si se observan efectos de que el efecto sobre el medio ambiente es relevante, la utilización del OMG será parada hasta que se apliquen las medidas adecuadas que eliminen el posible riesgo.