

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/18/06
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	03Abr2018
d) Título del proyecto:	Estudio global de una única dosis y en una sola administración de AVXS-101 en lactantes con atrofia muscular espinal presintomática diagnosticada genéticamente y con múltiples copias del gen <i>SMN2</i>
e) Período propuesto para la liberación:	De Abril 2018 hasta Junio 2023

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	<i>AveXis, Inc. 2275 Half Day Road, Suite 200 Bannockburn, IL 60015, Estados Unidos</i>
-------------------------------------	---

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"/>
	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):
Vector de virus adenoasociado de serotipo 9 (*adeno-associated vector serotype 9*, AAV9) recombinante que contiene el gen de supervivencia de las motoneuronas (SMN) humano (AVXS-101) para el tratamiento de la atrofia muscular espinal (AME).

b) Identidad del OMG (género y especie)

Familia: Parvoviridae

Género: Dependovirus

Especie: Virus adenoasociado (vector viral sin capacidad de replicación obtenido a partir del AAV9 que contiene ADNc del gen SMN humano)

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

Se espera que la estabilidad genética con respecto a los rasgos genéticos sea equivalente a la del AAV parental. El ADN del AAV parental y de los vectores basados en AAV persiste en las células transducidas en forma de concatémeros circulares episómicos (extracromosómicos) en los tejidos humanos (Chen et al., 2005, Penaud-Budloo et al., 2008, Schnepf et al., 2005, Schnepf et al., 2009). Sin embargo, debido a la carencia de los genes víricos rep y cap, se espera que AVXS-101 permanezca en las células en forma de episomas y no se replique ni produzca partículas virales. El casete de expresión será transcrito y traducido por las enzimas de la célula hospedadora, lo cual conducirá a la expresión de SMN.

En general, los virus ADN tienen una mayor estabilidad genética que los virus ARN. Esta mayor estabilidad puede atribuirse a los siguientes factores: (a) el ADN es termodinámicamente más estable que el ARN, (b) la replicación del ADN es mucho menos propensa a errores que la replicación del ARN y (c) existen más mecanismos en la célula hospedadora para la reparación de errores en el ADN que en el ARN. La recombinación genómica homóloga puede ocurrir de forma espontánea en la naturaleza entre los genomas virales de cepas de AAV solo cuando una célula del organismo hospedador es infectada de manera simultánea por dos cepas diferentes de AAV y un virus colaborador.

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

No

<p>En caso afirmativo, indique el código del país:</p> <p>BE</p> <p>DE</p> <p>ES</p> <p>GB</p> <p>IT</p> <p>NL</p>
--

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: Bélgica, Dinamarca, España, Italia y Holanda - Número de la notificación: Todavía no disponible 	

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: Estados Unidos, Canadá y Australia - Número de la notificación: US: IND 15,699, Canadá, Australia: no disponible. 	

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

<p><i>Los vectores de AAV recombinantes (rAAV) presentan un buen perfil de seguridad. Su virus parental, el AAV parental, no está asociado a enfermedades en los seres humanos y solo puede infectar a personas y a otros primates. Los vectores de rAAV se diseñan de manera que no contengan ninguno de los genes que codifican proteínas virales. Por tanto, la inducción de una respuesta inmunitaria a la célula transducida se minimiza y ello permite la expresión a largo plazo del transgén en las células transducidas con AAV. Los virus AAV2 y AAV9 parentales no pueden replicarse a menos que estén en presencia de un virus colaborador, como el adenovirus o el herpesvirus. Dado que AVXS-101 no contiene ninguno de los genes virales necesarios para la replicación (rep, cap), esta es defectuosa aun en presencia de un virus colaborador. Solo en el hipotético caso de que una célula estuviera coinfectada con AVXS-101, un AAV parental y un virus colaborador podría producirse la replicación de AVXS-101 (diseminado). Por tanto, se espera que la patogenia de AVXS-101 sea incluso menor que la de sus virus parentales AAV2 o AAV9, que ya se consideran no patógenos.</i></p>

Los efectos de la exposición involuntaria de seres humanos a AVXS-101 son los mismos que los de la exposición voluntaria (pacientes): efectos relacionados con la expresión de la proteína SMN, inducción de respuestas inmunitarias anti-AAV9 y posibles consecuencias de la mutagénesis insercional y la transmisión vertical. La probabilidad de que estos efectos ocurran y causen efectos nocivos es insignificante, ya que la exposición involuntaria de seres humanos a AVXS-101 (infeccioso) solo puede ser de varios órdenes de magnitud menor que la exposición del sujeto, debido a la incapacidad de replicación de AVXS-101 y la reducida cantidad y duración (si la hay) de las infecciones por la excreción de AVXS-101 por los sujetos.

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): *Family of Parvoviridae*

ii) Género: <i>Dependovirus</i>
iii) Especie: <i>Adeno-associated virus</i>
iv) Subespecie: N/A
v) Cepa: N/A
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): <i>Serotype 2 and 9</i>
vii) Nombre vulgar: AAV2/9

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"/>
<i>Aproximadamente del 50 % al 80 % de la población humana europea es seropositiva para al menos uno de los serotipos del AAV.</i>	
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:	
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

<p>a) Si es un microorganismo:</p> <p>Agua <input type="checkbox"/></p> <p>Suelo, en libertad <input type="checkbox"/></p> <p>Suelo, en simbiosis radiculares de plantas <input type="checkbox"/></p> <p>En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas <input type="checkbox"/></p> <p>En simbiosis con animales <input type="checkbox"/></p> <p>Otros , (especifíquense): Humanos <i>El AAV se ha aislado de primates humanos y no humanos, aunque otros animales pueden ser hospedadores. Específicamente, el AAV9 se ha aislado de tejidos humanos.</i></p>
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: No Aplica

5.a) Técnicas de detección

<i>Pruebas serológicas.</i>

5.b) Técnicas de identificación

<i>Anticuerpos específicos de serotipo, secuenciación de ADN.</i>

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

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

En caso afirmativo, especifíquese:

El AAV parental no está clasificado en los grupos de riesgo 2, 3 ni 4 en la Unión Europea (UE) de acuerdo con la Directiva 2000/54/CE, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (anexo III). Su designación más pertinente es como agente biológico del grupo de riesgo 1, definido en la UE como “aquél que resulta poco probable que cause una enfermedad en el hombre”. Las únicas secuencias virales incluidas en la construcción del vector AVXS-101 son las RTI del AAV2, que son necesarias tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de AAV recombinante. Por ello, es poco probable que AVXS-101 cause enfermedades en humanos.

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.

Aunque las infecciones en el hombre son frecuentes, el AAV no es un virus patógeno para este y nunca ha sido implicado como agente causal de ninguna enfermedad (Tenenbaum et al., 2003). En la infección por el AAV, prácticamente no se observa ninguna respuesta inmunitaria innata en el ser humano (Zaiss et al., 2002) y, a nivel adaptativo, se trata principalmente de una respuesta humoral. Los anticuerpos que presentan los pacientes debido a una infección previa constituyen la respuesta humoral observada frente al AAV. Se han documentado respuestas celulares a los vectores de AAV; sin embargo, estas respuestas podrían depender de la vía de administración. A pesar de la carencia de datos indicativos de patogenicidad, se han establecido correlaciones entre los siguientes: (i) Presencia de secuencias de ADN del AAV en tejido testicular y muestras de semen anómalas (Rohde et al., 1999), (ii) presencia de AAV infeccioso en material embrionario y en el epitelio cervical (Burguete et al., 1999). Es difícil establecer una asociación clara a partir de estos estudios, ya que existen datos indicativos de una infección concurrente por el virus del papiloma humano en la mayoría de los sujetos, y porque el ADN del AAV se puede detectar en muestras cervicales en la mayoría de las mujeres (Burguete et al., 1999), pero depende en gran medida de las diferencias en la obtención de muestras entre los estudios (Erles et al., 2001). Un riesgo teórico adicional de la infección por el AAV sería el riesgo de mutagénesis por inserción, causada por la integración inespecífica del genoma del AAV en el genoma de las células hospedadoras infectadas.

Existen informes discordantes que indican que la integración del genoma del AAV2 parental se asocia a la inducción de carcinoma hepatocelular en un pequeño subconjunto de pacientes; sin embargo, hay varios estudios cuyos datos contradicen estas afirmaciones: a) el AAV2 ha infectado aproximadamente al 90 % de la población humana, b) se ha mostrado que el AAV2 tiene actividad antineoplásica, c) los datos epidemiológicos apuntan a que la infección por el AAV2 desempeña un papel protector frente al carcinoma cervicouterino y d) hasta la fecha, los serotipos del AAV, incluyendo los AAV2 y AAV9 recombinantes, se han usado o se están utilizando en la actualidad en 162 ensayos clínicos en los que no se ha observado ni notificado ningún tipo de cáncer (Srivastava y Carter, 2017).

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

La replicación del AAV2 y AAV9 en un hospedador infectado depende de la coinfección por un virus colaborador, como el adenovirus, y el tiempo de generación de AAV parental en un ecosistema natural variará de semanas a años, en función del momento de la coinfección.

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: consulte a)

c) Modo de reproducción

Sexual

Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

Célula hospedadora permisiva; la reproducción del AAV parental depende de la coinfección por virus colaborador (como adenovirus o herpesvirus).

9. Capacidad de supervivencia

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

- (i) endosporas
- (ii) quistes
- (iii) esclerocios
- (iv) esporas asexuales(hongos)
- (v) esporas sexuales (hongos)
- (vi) huevos
- (vii) pupas
- (viii) larvas
- (ix) otras (especifíquense)

Tras la infección de las células por los AAV, sus genomas forman concatémeros que permanecen en forma de episomas durante largos períodos de tiempo.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El AAV es un virus sin envoltura relativamente estable en el ambiente y estable con la desecación. Es sensible a los desinfectantes viricidas apropiados, como la solución de cloro a 1000 ppm. La replicación del AAV parental depende de la coinfección por virus colaboradores como los adenovirus o los herpesvirus. En presencia del virus colaborador, se produce una infección productiva por el AAV caracterizada por la replicación del genoma, la expresión de los genes víricos y la producción del virión. En ausencia de coinfección por herpesvirus, el ADN del virus persistirá dentro de las células infectadas en forma de episoma o podrá integrarse en el genoma de la célula hospedadora. En ambos casos, el virus permanece en estado latente.

10.a) Vías de diseminación

La dispersión (diseminación) del AAV no está documentada de forma concluyente; no obstante, es probable que ocurra por inhalación (de gotitas en aerosol), contacto con membranas mucosas (oculares, nasales y bucales) o transmisión fecal-oral.

10.b) Factores que afectan a la disseminación

Coinfección por un virus colaborador.

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)

Ninguna

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

AVXS-101 es un producto biológico recombinante que está compuesto por una cápside del virus adenoasociado de serotipo 9 (AAV9) recombinante, autocomplementario y sin capacidad de replicación ni de integración, que contiene el ADNc del gen SMN humano bajo el control del híbrido formado por el potenciador de citomegalovirus (CMV)/promotor de la β -actina de pollo (CB), así como dos repeticiones terminales invertidas (ITR) del ADN del AAV de serotipo 2 (AAV2). La ITR izquierda del AAV se ha modificado para promover la hibridación intramolecular del transgén, y de este modo formar un transgén bicatenario listo para la transcripción. Se ha mostrado que esta ITR modificada, denominada ITR "autocomplementaria", aumenta significativamente la velocidad a la que se transcribe el transgén y se sintetiza la proteína SMN humana resultante. El AAV autocomplementario recombinante se puede emplear para AVXS-101 debido al pequeño tamaño del gen SMN, que permite un empaquetamiento eficiente y una transferencia génica eficiente con menores concentraciones víricas, en comparación con los vectores de AAV prototípicos monocatenarios. Todo el ADN del AAV9 parental se ha eliminado y sustituido

por los genes descritos anteriormente (las dos ITR proceden del AAV2). Estas modificaciones hacen que AVXS-101 sea incapaz de replicarse por sí mismo, lo cual puede considerarse un posible beneficio para la seguridad en comparación con los vectores integrativos con capacidad de replicación, ya que la dosis total de virus administrada a un paciente se puede controlar estrechamente y existe un riesgo mínimo de transmisión involuntaria.

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

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

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	<input type="checkbox"/>

b) Identidad del vector:

El constructo del vector contiene el casete de expresión de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) del gen SMN, flanqueado por las secuencias de repetición terminal invertidas (ITR) del AAV2. El plásmido pSMN que contiene el constructo del vector se ha elaborado insertando la secuencia de ADNc del gen SMN humano en el plásmido pAAV-MCS, el cual contiene el potenciador de CMV/promotor CB y utiliza el intrón del virus del simio 40 (SV40) para lograr altos niveles de expresión y la secuencia de poliadenilación (poli A) de la somatotropina bovina (BST) como señal de terminación. Las únicas secuencias virales incluidas en la construcción de este vector son las ITR del AAV2, que son necesarias tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de AAV recombinante. Una modificación de la ITR “izquierda” permite la producción de genomas autocomplementarios (McCarty, 2008). Esta secuencia fue encapsidada en viriones de AAV9.

c) Gama de organismos huéspedes del vector: células bacterianas

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí

No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:

No hay genes de resistencia a antibióticos en AVXS-101. No obstante, hay genes de resistencia a kanamicina presentes en los plásmidos utilizados en el proceso de fabricación de AVXS-101.

e) Fragmentos constituyentes del vector

El fármaco AVXS-101 se obtiene mediante la transfección de células HEK293 con plásmidos distintos.

Plásmido pSMN

El genoma del vector de AAV procedente de pSMN es un genoma de ADN autocomplementario que tiene las repeticiones terminales invertidas (ITR) derivadas del AAV2 flanqueando el casete de expresión. La eliminación del sitio de unión de rep dentro de la ITR 5' permite la producción de genomas autocomplementarios (McCarty et al., 2008). Las únicas secuencias virales incluidas en la construcción de este vector son las ITR, que son necesarias para la replicación del ADN vírico y para el empaquetamiento del genoma del vector de rAAV. El casete de expresión está bajo el control del híbrido formado por el potenciador de CMV/promotor de la β -actina de pollo, procedente del plásmido pAAV-MCS. Se ha incluido el intrón tardío de 16S del SV40 para lograr una expresión génica eficiente, al igual que la secuencia de poliadenilación de la somatotropina bovina como señal de terminación. Estos 2 elementos se amplificaron mediante PCR a partir del plásmido pscAAV-CMV-GFP. El ADNc del gen de supervivencia de las motoneuronas humano correspondiente al ARNm maduro se clonó en el vector plasmídico de AAV autocomplementario procedente del pAAV-MCS. Se realizó la secuenciación completa del ADN del vector de AAV encapsidado.

Plásmido pAAV

El plásmido pAAV es un plásmido auxiliar de AAV que codifica las 4 proteínas rep del AAV parental de serotipo 2 y las 3 proteínas VP de la cápside del AAV parental de serotipo 9. La identidad del gen de la cápside del AAV9 (cap9) se confirmó mediante secuenciación del plásmido de ADN y mapeo con enzimas de restricción para cada banco celular maestro (BCM) y banco celular de trabajo (BCT).

Plásmido auxiliar de adenovirus pHELP

El plásmido pHELP tiene un tamaño de 11 635 pares de bases (pb). El plásmido contiene las regiones del genoma de adenovirus que son importantes para la replicación del AAV, esto es, E2A, E4 y VA ARN (las funciones de E1 de adenovirus son proporcionadas por las células HEK293), pero no contiene otros genes estructurales ni replicativos de adenovirus. Las secuencias de adenovirus presentes en este plásmido constituyen aproximadamente el 28 % (9280/35 938) del genoma de adenovirus y no contienen los elementos en cis esenciales para la replicación, como las ITR. En consecuencia, no se espera que se generen adenovirus infecciosos a partir de dicho sistema de producción. La identidad de estos 3 genes de adenovirus se confirmó mediante secuenciación del ADN de la reserva del plásmido. El análisis de ADN reveló un 100 % de homología con las 3 regiones génicas del adenovirus tipo 5.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense) transfeccion	

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

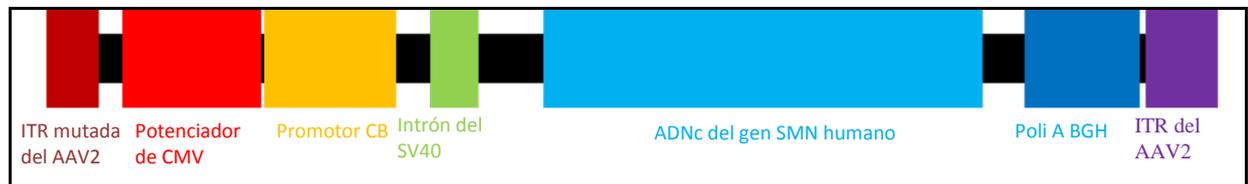
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) microinyección	<input type="checkbox"/>
iii) macroencapsulación	<input type="checkbox"/>
iv) macroinyección	<input type="checkbox"/>
v) otros, (especifíquense)	

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El constructo del vector contiene el casete de expresión de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) del gen SMN, flanqueado por las secuencias de repetición terminal invertidas (ITR) del AAV2. El plásmido pSMN que contiene el constructo del vector se ha elaborado insertando la secuencia de ADNc del gen SMN humano en el plásmido pAAV-MCS, el cual contiene el potenciador de CMV/promotor CB, el intrón del virus del simio 40 (SV40) para lograr altos niveles de expresión, y la secuencia de poliadenilación (poli A) de la somatotropina bovina (BST) como señal de terminación. Las únicas secuencias virales incluidas en la construcción de este vector son las ITR del AAV2, que son necesarias tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de AAV recombinante. Una modificación de la ITR “izquierda” permite la producción de genomas autocomplementarios (McCarty, 2008). A lo largo del proceso de fabricación de AVXS-101, la secuencia de este constructo se encapsida en viriones de AAV9.

Figura 1: Constructo del vector



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

Tabla 1 Posición de los elementos de la secuencia de ADN del plásmido AVXS-101

Componente	Descripción	Finalidad
Repetición terminal invertida (ITR) “izquierda” mutada del AAV2	Modificación de McCarty de la ITR “izquierda” eliminando el sitio de resolución terminal para permitir la formación de una horquilla del genoma	Producción de vector autocomplementario de segunda generación para maximizar la potencia del vector y permitir la administración de dosis sistémicas inferiores
Híbrido potenciador de citomegalovirus (CMV)/promotor de la β -actina de pollo (CB)	Porción del potenciador temprano inmediato de CMV Promotor mínimo de la β -actina de pollo	Altos niveles de expresión constitutiva del gen SMN
Intrón del SV40	Intrón del virus del simio 40 (se ha mostrado que promueve la acumulación de una cantidad constante de ARNm para la traducción)	Característica común en los vectores génicos para incrementar la expresión genética
ADNc del gen SMN humano	N.º de acceso en Genbank NM_017411 (diferencia de un nucleótido en la región pertinente)	Expresión de la proteína SMN completa
Secuencia de poliadenilación (poli A) de la somatotropina bovina (BGH) como señal de terminación	Señal de poli A de la BGH	Poliadenilación eficiente del ARNm del SMN (señal de terminación de la transcripción) para conseguir altos niveles de expresión genética eficiente
ITR “derecha” del AAV2	ITR no modificada del AAV2	Necesaria en <i>cis</i> tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de AAV recombinante

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG
Ver tabla de arriba (b)

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:
- en un plásmido libre



- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense):

El inserto descrito es el genoma completo del vector AVXS-101 y codifica la proteína SMN humana..

e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?

Sí

No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input checked="" type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> (especifique el phylum y la clase):
Otros (especifíquense)	

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): Primate
ii) Familia (plantas): NA
iii) Género: Homo
iv) Especie: Sapiens
v) Subespecie: Sapiens
vi) Cepa: NA
vii) Cultivar/línea de reproducción: NA
viii) Patovar: NA
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 checked="" type="checkbox"/>
-----------------------------	--

En caso afirmativo , especifíquese:

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

Sí No No se sabe

No es aplicable, ya que el material transferido a los seres humanos es una proteína (SMN) humana

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

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese

Las partículas del virus AVXS-101 tienen características de supervivencia ex vivo en el medio ambiente similares a las del AAV9 parental, ya que la cápside de AVXS-101 es similar a la del AAV9.

b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Debido a la eliminación de los genes rep y cap, AVXS-101 no puede reproducirse/replicarse, ni siquiera en presencia de un virus colaborador del AAV parental (adenovirus).

c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Las proteínas de la cápside viral tienen la misma diseminación/tropismo que el AAV9 original. Sin embargo, dado que AVXS-101 no puede replicarse, la diseminación se limita a la administración de AVXS-101 al paciente y al derrame involuntario.

d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Ni el AAV parental ni AVXS-101 son patógenos para los seres humanos o el medio ambiente. Además, dado que AVXS-101 no puede replicarse, no puede entrar en un ciclo infeccioso, ni siquiera en presencia de la función auxiliar.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Todos los análisis de identidad, pureza y calidad han confirmado la estabilidad de AVXS-101. Cuando se administra a las personas, AVXS-101 infecta las células diana pero no se forman nuevas partículas virales. En la célula, múltiples genomas de AVXS-101 se ensamblan para formar grandes concatémeros de ADN bicatenario. Estos concatémeros persisten en la célula en forma de estructuras episómicas estables que son activas desde el punto de vista de la transcripción. En ausencia de un mecanismo intrínseco de variación o inestabilidad genéticas y, sobre la base de la estabilidad genética conocida del AAV parental, se espera que los rasgos genéticos de AVXS-101 sean 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><i>Anexo III A, punto II(A)(11)(d). Los datos preclínicos indican que, en la mayoría de los casos, el ADN introducido por vectores de AAV recombinantes persiste predominantemente como elemento extracromosómico (episoma) y no se integra en el genoma de las células hospedadoras (McCarty, et al., 2004). Aunque, tal y como se ha descrito anteriormente, tampoco se prevé que AVXS-101 se integre en el genoma de la célula hospedadora, las consecuencias a largo plazo de la administración de vectores de AAV a los seres humanos aún no se conocen por completo. Dado que en el producto AVXS-101 se han empleado AAV9 previa eliminación de todo el ADN parental de las cápsidas, salvo las repeticiones terminales invertidas de AAV2, se cree que el posible riesgo de incorporación de AVXS-101 al ADN cromosómico del paciente es significativamente menor. Es posible que el vector de AAV9 que contiene el gen SMN pueda interactuar con otros virus con los que el paciente entre en contacto, por ejemplo, rinovirus,</i></p>		

adenovirus o herpesvirus. Si sucediera, el vector de AAV9 podría formar un virus que causaría una infección si el paciente y las células para el rescate, la replicación y el empaquetamiento también estuvieran expuestos al AAV2 parental. Sin embargo, el rescate, la replicación y el empaquetamiento se detendrían a medida que el sistema inmunitario del paciente fuera eliminando los virus colaboradores, como rinovirus, adenovirus o herpesvirus. Esta situación improbable ha sido estudiada. En cultivo celular, el genoma del AAV recombinante puede ser rescatado y replicado a través de una superinfección por el AAV parental y un virus colaborador. Sin embargo, los experimentos de rescate in vivo no han podido mostrar el rescate y la replicación (Favre et al., 2001), excepto en un caso en el que se administraron dosis muy elevadas del AAV parental y de adenovirus en un entorno particular (Afione et al., 1996). Por tanto, la interacción del AAV9 con otros virus para causar una infección parece ser un riesgo mínimo con AVXS-101.

AVXS-101 se ha utilizado en un estudio clínico (AVXS-101-CL-101) con 15 pacientes participantes; por el momento no se conocen por completo todos los riesgos.

Los pacientes podrían presentar una respuesta alérgica a AVXS-101. Es probable que los pacientes desarrollen una respuesta inmunitaria al vector viral de AAV9 que podría interferir en las futuras intervenciones de transferencia génica con este vector, o incluso impedirlos.

Algunos ratones afectados por una forma de AME tipo 1 que fueron tratados con el vector del estudio experimentaron necrosis vascular localizada alrededor de la oreja, llamada necrosis auricular. Se cree que esta necrosis no está relacionada con el vector y que probablemente se deba a un defecto subyacente observado en varios modelos murinos de AME (Narver et al., 2008). La relevancia para los seres humanos con atrofia muscular espinal se desconoce. Algunos ratones con AME tipo 1 que recibieron tratamiento con AVXS-101 presentaron alteraciones en las enzimas hepáticas y también un ligero deterioro y reparación de los tejidos cardíaco y hepático; los cambios en el corazón y el hígado solo fueron visibles al microscopio. AVXS-101 probablemente expresará la proteína SMN en muchos tipos de células diferentes además de las neuronas motoras. Si bien la expresión de la proteína SMN en muchos tipos celulares diferentes no se ha asociado a ningún efecto negativo por el momento, actualmente no se conocen todas las consecuencias.

En los participantes del ensayo AVXS-101-CL-101 se han observado aumentos en las pruebas funcionales hepáticas, los cuales se consideran un reflejo de una respuesta inmunitaria de los linfocitos T al vector de AAV9. En algunos casos, el incremento de los valores en las pruebas funcionales hepáticas puede llegar a ser un acontecimiento adverso grave. En general, un aumento prolongado de las enzimas hepáticas puede ser un indicador de daño hepático de importancia clínica. Sin embargo, ninguna de las anomalías de las enzimas hepáticas observadas en el estudio AVXS-101-CL-101 fue acompañada de síntomas clínicos y, hasta la fecha, todos los casos se han resuelto con el tratamiento por lo general a corto plazo con prednisolona.

II(C)(2)(i) AVXS-101 es un vector no replicativo y la administración de AVXS-101 a los pacientes está asociada a una exposición reducida del medio ambiente a AVXS-101]. Por tanto, no se espera que exista exposición de plantas ni de

animales. AVXS-101 no es patógeno y la proteína humana SMN no tiene efectos tóxicos. No se han notificado efectos adversos para el medio ambiente ni para la salud humana después de la liberación de OMG similares (virus adenoasociados de los serotipos 2 y 9). La excreción del vector se puede detectar en la sangre, la orina, la saliva y las heces durante, como máximo, algunas semanas después de la inyección. En este momento se desconocen los riesgos asociados a la excreción del vector; sin embargo, es poco probable que los haya, ya que el vector no es infeccioso y no tiene capacidad de replicación. De todos modos, se deben proporcionar instrucciones a los familiares y cuidadores con respecto al uso de guantes de protección, si van a estar en contacto directo con desechos o fluidos corporales del paciente, y a la importancia de mantener una buena higiene de las manos durante algunas semanas después de la inyección.

Además, los pacientes tienen prohibido donar sangre durante los dos años posteriores a la inyección del vector.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente:

PCR digital en nanogotas o ddPCR con cebadores y sonda específicos para el gen SMN en AVXS-101. No obstante, esta técnica solo es aplicable cuando se puede obtener suficiente cantidad de ADN para el análisis.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

PCR digital en nanogotas o ddPCR con cebadores y sonda específicos para el gen SMN en AVXS-101. Enzimoimmunoanálisis de recuento de puntos (Enzyme-Linked ImmunoSpot, ELISPOT) para detectar una respuesta de linfocitos T al AAV a partir de una muestra de sangre. Enzimoimmunoanálisis de adsorción (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) para detectar anticuerpos contra el AAV mediante ELISA a partir de una muestra de suero.

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de la liberación es llevar a cabo un estudio global de una única dosis y en una sola administración de AVXS-101 en lactantes con atrofia muscular espinal presintomática diagnosticada genéticamente y con múltiples copias del gen SMN2. No se espera ningún beneficio medioambiental.

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

No

En caso afirmativo, especifíquese:

AVXS-101 se administrará por vía intravenosa a lactantes con atrofia muscular espinal presintomática diagnosticada genéticamente y con múltiples copias del gen SMN2, en varios centros de todo el mundo. Posteriormente, se puede esperar la excreción de ADN del vector en la orina, la saliva o las heces durante varias semanas; sin embargo, se ha mostrado que los vectores de AAV no son infecciosos.

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):

*Hospital Universitario Vall de Hebron
Barcelona
España*

b) Área del lugar (m²): NA

(i) lugar real de la liberación (m²):

(ii) área de liberación más amplia (m²):

c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:

No es aplicable, ya que el material excretado, si lo hubiera, no es infeccioso.

d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:

Ninguno

4. Método y amplitud de la liberación

a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Está previsto incluir a un máximo de 44 pacientes en el estudio clínico propuesto de fase III global, abierto, de un solo grupo y multicéntrico. En un centro dado, se puede esperar que unos 2-3 pacientes como máximo reciban la dosis propuesta. Los pacientes recibirán una dosis de AVXS-101 administrada una sola vez de $1,1 \times 10^{14}$ gv/kg, la cual es equivalente a la dosis recibida por los pacientes de la cohorte 2 del estudio de fase I (AVXS-101-CL-101), conforme a la determinación efectuada mediante análisis directo con métodos analíticos optimizados. El número y el tamaño apropiados de los viales se determinarán para cada paciente en función del peso corporal, así como del título del producto en el lote específico de AVXS-101.

Las cantidades que se liberarán al medio ambiente por excreción serán una proporción muy pequeña del número total de genomas virales inyectados, de los cuales la mayoría, si no todos, son no infecciosos. AVXS-101 se puede detectar en las muestras de análisis de la excreción a partir del día 1 posinyección. En el estudio de fase I, los cinco pacientes analizados recibieron la dosis de $2E14$ gv/kg. Las concentraciones del vector excretado en la saliva y la orina son bastante bajas y están por debajo de los límites de cuantificación por ddPCR en las matrices

algunos días después de la dosis. Si bien inicialmente se concentra en las heces, la cantidad de vector excretado disminuye de forma logarítmica. Una concentración equivalente al 10,0 %-100,0 % de la concentración administrada es detectable en las heces hasta 14 días después de la dosis. Estas concentraciones disminuyen aproximadamente 4 unidades logarítmicas durante los 30 días posteriores a la dosis; 60 días después de la dosis, todos los pacientes tenían concentraciones de AVXS-101 en heces inferiores al límite de cuantificación. Las concentraciones que representan un 0,1 %-0,01 % de la dosis inicial del paciente se encuentran en la orina y la saliva el día 1 posterior a la administración, después de lo cual la concentración de AVXS-101 excretado en estas matrices queda por debajo del límite de cuantificación del análisis. En conjunto, estos datos muestran una rápida disminución de las cantidades de vector excretado, las cuales quedan muy por debajo de las concentraciones administradas a los pacientes tratados con AVXS-101.

b) Duración de la operación:

Se espera que el procedimiento de administración completo, incluyendo la preparación del sistema de infusión, tenga una duración inferior a 2 horas.

(c) Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:

Se capacitará a todo el personal participante del centro sobre las mejores prácticas de bioseguridad que se aplicarán durante la preparación en la farmacia, el transporte a la sala de administración, las precauciones durante la administración y la eliminación de todos los residuos biológicos. Dicha capacitación incluye, entre otros, el uso de vestimenta de protección adaptada, de guantes y gafas, la presencia constante de un kit para casos de derrames y la descontaminación de los residuos antes de su eliminación.

El equipo de protección personal (EPP) debe incluir:

- *Guantes (considerar el uso de doble guante)*
- *Gafas protectoras*
- *Bata de laboratorio*
- *También se debe utilizar el EPP apropiado para los antebrazos, por ejemplo, cubremangas o guantes de seguridad sobre las mangas de la bata de laboratorio.*
- *El personal que tenga cortes o arañazos en la piel no debe trabajar con AAV.*

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

El ensayo clínico se realizará en 7 centros de investigación de Europa y en 17 centros de investigación fuera de la Unión Europea. La preparación e inyección de AVXS-101 tendrá lugar en salas de hospital en un ambiente controlado (condiciones ambientales interiores para la administración). AVXS-101 se enviará congelado y se almacenará a 2-8 °C antes de la administración.

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

Actualmente se está llevando a cabo un ensayo clínico de fase I de AVXS-101 (AVXS-101-CL-101) en Estados Unidos. El objetivo del tratamiento con AVXS-101 es aumentar el nivel de expresión de la proteína SMN en las motoneuronas antes de la aparición de lesiones irreversibles y de la pérdida de estas, y modificar de esta forma el fenotipo de la AME del paciente a una evolución más leve con una mejor calidad de vida y una mayor supervivencia. Un estudio clínico (AVXS-101-CL-101) en pacientes con AME tipo 1 tratados a una edad <9 meses ha mostrado una mayor supervivencia: el 100 % de los pacientes sobrevivieron más allá de los 13,6 meses de edad, un punto temporal en el que, según datos recientes de la historia natural, solo sobreviven el 25 % de los pacientes (Finkel et al., 2014). A fecha de 20 de enero de 2017, todos los pacientes presentaban una mejoría en la función motora con respecto al valor basal, evaluada mediante el Test para lactantes de trastornos neuromusculares del Hospital Infantil de Filadelfia (Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders, CHOP INTEND), una prueba desarrollada para medir las habilidades motoras de los pacientes con AME tipo 1. Además, los pacientes de la cohorte con la dosis terapéutica propuesta alcanzaron y mantuvieron sistemáticamente los hitos del desarrollo motor clave, que esencialmente no se observan nunca en los datos de la historia natural, por ejemplo, el control cefálico, el paso de decúbito dorsal a ventral, la sedestación con y sin apoyo, la bipedestación y la marcha independiente (De Sanctis et al. 2016). AVXS-101 parece presentar un perfil de seguridad favorable y, en general, una buena tolerabilidad. En los datos de la fecha de corte más reciente (7 de agosto de 2017), AVXS-101 seguía mostrando un perfil de seguridad y tolerabilidad favorable y una mejora adicional de la eficacia. A fecha de 7 de agosto de 2017, los pacientes tratados con AVXS-101 seguían presentando un mejor estado nutricional, con menos casos de alimentación artificial (p. ej., sonda de gastrostomía, sonda nasoyeyunal), una mejora de la unión motora y la consecución de hitos del desarrollo, como la sedestación sin apoyo. Los principales resultados de la eficacia en relación con la función motora (cuando todos los pacientes tratados habían cumplido como mínimo los 20 meses de edad después de la terapia génica) y la descripción de los datos de la seguridad se pueden encontrar en el artículo de Mendell et al., 2017.

Es importante destacar que AVXS-101 no es patógeno y que la proteína humana SMN no tiene efectos tóxicos.

No se han notificado efectos adversos para el medio ambiente ni para la salud humana después de la liberación de OMG similares (virus adenoasociados de los serotipos 2 y 9). La excreción del vector se puede detectar en la sangre, la orina, la saliva y las heces durante, como máximo, algunas semanas después de la inyección. En este momento se desconocen los riesgos asociados a la excreción del vector; sin embargo, dado que este es no patógeno y no tiene capacidad de replicación, se considera poco probable que el vector excretado provoque efectos adversos de importancia clínica. De todos modos, se deben proporcionar instrucciones a los familiares y cuidadores con respecto al uso de guantes de protección, si van a estar en contacto directo con desechos o fluidos corporales del paciente, y a la importancia de mantener una buena higiene de las manos durante un mínimo de 4 semanas después de la inyección.

Además, los pacientes tienen prohibido donar sangre durante los dos años posteriores a la inyección del vector.

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): NA
ii) Familia (plantas): NA
iii) Género: <i>Dependovirus</i>
iv) Especie: Virus Adenoasociado (vector viral deficiente en la replicación de AAV9 que contiene ADNc de SMN humano)
v) Subespecies: A
vi) Cepa: NA
vii) Cultivar/Línea de reproducción: NA
viii) Patovar: NA
ix) Nombre vulgar: AVXS-101

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

En los sujetos tratados, AVXS-101 puede atravesar la barrera hematoencefálica, lo que permite la vía de administración por infusión intravenosa y el tratamiento dirigido de manera eficaz a las características tanto centrales como sistémicas. AVXS-101 se dirige de forma específica a las neuronas motoras, lo cual permite un inicio rápido del efecto. Se espera que el vector de ADN persista en la célula transducida a través de la formación de concatémicos episómicos.

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

No se espera ninguna con este producto.

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: <i>AVXS-101 no puede replicarse y, por tanto, no se espera su diseminación ni selección.</i>		

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

Aunque AVXS-101 podría infectar teóricamente las células de otros mamíferos, no puede iniciar un ciclo de replicación productivo porque carece de la capacidad de replicarse y, por tanto, no se establece en otros ecosistemas.

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

i) Orden y taxón superior (animales): No Aplica
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:

La probabilidad de intercambio genético con otros organismos en el ecosistema de liberación es insignificante. AVXS-101 es un vector no replicativo y la administración de AVXS-101 a los pacientes está asociada a una exposición reducida del medio ambiente a AVXS-101. Incluso si AVXS-101 se libera en el medio ambiente a través de la excreción, debido al escaso número de copias de ADN del vector, la transferencia horizontal de genes es muy improbable. Incluso si se produjera una transferencia horizontal de genes, las secuencias no conferirían una ventaja selectiva a otros organismos como las bacterias, ya que AVXS-101 no contiene ningún promotor procariota, ningún gen de resistencia a antibióticos u otro tipo de genes de resistencia, ni otros genes que pudieran promover o limitar su crecimiento. Por tanto, es improbable que AVXS-101 tenga un efecto sobre la dinámica natural de las poblaciones microbianas o los ciclos biogeoquímicos en alguna zona determinada del medio ambiente.

b) De otros organismos al OMG:

Insignificante. Dado que AVXS-101 contiene las secuencias de ITR del AAV2, existe una posibilidad (remota) de recombinación homóloga del vector con el AAV2 parental en caso de una coinfección en las personas expuestas. El resultado de tal recombinación sería que AVXS-101 ganaría genes funcionales del AAV2 necesarios para la replicación y la encapsidación, pero, a su vez, perdería el transgén. En consecuencia, la recombinación conduciría a la formación de virus que serían idénticos al material de partida y que no tendrían capacidad de replicación.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Expresión de la proteína SMNh.

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 hay referencias disponibles.

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

Desconocidas o impredecibles, ya que el AAV parental no está implicado en ningún proceso biogeoquímico.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se puede hacer un seguimiento de AVXS-101 mediante ddPCR con cebadores y sonda específicos para el gen SMN.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Sobre la base de los datos de excreción del virus obtenida en el estudio de fase I AVXS-101-CL-101, no está previsto ni se considera necesario hacer ningún seguimiento.

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

La probabilidad de transferencia de AVXS-101 a otros organismos es insignificante y no está previsto hacer un seguimiento. Se podría utilizar el análisis existente por ddPCR empleado en los estudios preclínicos y clínicos.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No está previsto realizar un seguimiento ni se considera necesario.

5. Duración del seguimiento

No está previsto realizar un seguimiento ni se considera necesario.

6. Frecuencia del seguimiento

No está previsto realizar un seguimiento ni se considera necesario.

I. Información sobre el tratamiento posliberación y el tratamiento de residuos

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Después de la administración de AVXS-101 al sujeto, la sala de procedimientos se limpiará de acuerdo con los protocolos institucionales de referencia.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Dado que AVXS-101 será suministrado por el fabricante a la farmacia del hospital de forma individualizada, no debe quedar en el centro hospitalario producto sin utilizar después de la administración a los pacientes. Todo vial abierto o material no utilizado se debe sellar en recipientes a prueba de fugas y devolver a AveXis/almacén designado.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Viales vacíos y sin usar, los componentes del sistema de administración (sonda guía, cánula, agujas y jeringas de inyección), gasas, el equipo de protección personal (p. ej., guantes, etc.) y los materiales utilizados para recoger muestras de fluidos corporales después de la administración.

3(b) Tratamiento de residuos

Después de la administración de AVXS-101 al sujeto, todos los materiales utilizados para la inyección que hayan estado en contacto con el vector, como gasas estériles, agujas y jeringas, se deben sellar en recipientes a prueba de fugas. Todos los residuos se deben introducir en bolsas selladas con el símbolo de riesgo biológico y desechar en un contenedor para residuos de riesgo biológico. Todas las transferencias deben realizarse en recipientes a prueba de derrames. Se requerirá que las personas que manipulen el vector usen equipo de protección personal, por ejemplo, guantes. Bajo ninguna circunstancia el investigador suministrará AVXS-101 a una tercera parte, permitirá que AVXS-101 sea utilizado de otra forma diferente a la indicada en el protocolo de ensayo clínico ni eliminará AVXS-101 de ninguna otra manera.

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 de AVXS-101 (p. ej., en la mesa de trabajo o en el suelo), se seguirán las instrucciones dadas por el manual de farmacia del promotor para contener el vertido y desinfectarlo de forma inmediata, a fin de evitar una mayor diseminación. En caso de vertido accidental de AVXS-101 (p. ej., en la mesa

de trabajo o en el suelo), se seguirán los procedimientos descritos en el manual de farmacia del promotor para contener el vertido y desinfectarlo de forma inmediata, a fin de evitar una mayor diseminación. Para descontaminar las zonas afectadas (p. ej., erradicación de los OMG), los derrames en la zona de trabajo se limpiarán con lejía, de acuerdo con el manual de farmacia, las directrices de los Institutos Nacionales de Salud y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades estadounidenses (National Institutes of Health/Centers for Disease Control and Prevention, NIH/CDC) para la manipulación de agentes de nivel 1 de bioseguridad, y el Manual de Bioseguridad en el Laboratorio publicado por la Organización Mundial de la Salud (1997) . Todos los materiales contaminados se eliminarán a nivel local mediante incineración o esterilización en autoclave.

Todos los demás lugares se limpiarán de acuerdo con los procedimientos normales de descontaminación.

- 1. Evacuar la zona, quitarse el equipo de protección personal contaminado y dejar que los agentes se asienten durante un mínimo de 30 minutos. Iniciar el procedimiento de respuesta al vertido.*
- 2. Cubrir el vertido con material absorbente. Se debe comenzar por los bordes y continuar hacia el centro.*
- 3. Añadir cuidadosamente el desinfectante (lejía seguida de toallitas empapadas en alcohol) sobre el vertido absorbido, comenzando también por los bordes. Saturar la zona con desinfectante.*
- 4. Dejar transcurrir un período de contacto suficiente para inactivar el material del vertido. Los vertidos no viscosos requieren 15-20 minutos; los viscosos, 30 minutos.*
- 5. Utilizar papel absorbente para limpiar el derrame, desde el borde hacia el centro. Utilizar tenazas o pinzas para recoger plásticos, vidrios u otros objetos cortantes rotos que puedan perforar los guantes.*
- 6. Desechar el material absorbente en bolsas para residuos químicos.*
- 7. Limpiar la zona del derrame con papel absorbente empapado en desinfectante. Empapar bien la zona del derrame, dejar que se desinfecte durante 15-20 minutos más y limpiar con papel absorbente.*
- 8. Desechar todos los materiales de limpieza (empapados en desinfectante) en la bolsa o el recipiente para productos químicos y todo el equipo de protección personal contaminado en una bolsa para residuos de riesgo biológico. Cerrar herméticamente las bolsas.*
- 9. Colocar la bolsa en una segunda bolsa para residuos de riesgo biológico, cerrarla bien y desecharla de acuerdo con las directrices institucionales para la eliminación de residuos de riesgo biológico.*

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

Véase el punto 1 anterior; todos los materiales utilizados en la limpieza de derrames serán desechados como residuos clínicos e incinerados.

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 aplicable (porque no se espera que exista exposición de plantas ni de animales).

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

Se deben proporcionar instrucciones aprobadas por el Comité Ético de la Investigación con medicamentos (CEIm) a los familiares y cuidadores con respecto al uso de guantes de protección, si van a estar en contacto directo con desechos o fluidos corporales del paciente, y a la importancia de mantener una buena higiene de las manos durante un mínimo de 4 semanas después de la terapia génica. Además, los pacientes tienen prohibido donar sangre durante los dos años posteriores a la infusión del vector.