

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/18/07
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	19-Jun-2018
d) Título del proyecto:	Ensayo clínico de fase 3, abierto, de un solo brazo y dosis única de terapia de sustitución génica para pacientes con atrofia muscular espinal tipo 1 con una o dos copias de SMN2 mediante la liberación de AVXS 101 por infusión intravenosa.
e) Período propuesto para la liberación:	Desde la primera mitad de 2018 hasta la segunda mitad de 2021

2. Notificador

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

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)	Serotipo 9 (AAV9) del vector recombinante adenoasociado (AVXS-101) que contiene el gen humano de supervivencia de la neurona motora (SMN) para el tratamiento de la atrofia muscular espinal (AME).
---	---

b) Identidad del OMG (género y especie) Familia: Parvoviridae Género: Dependovirus Especie: Virus adenoasociado (vector vírico de replicación deficiente obtenido de AAV9 que contiene ADNc de 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 de los rasgos genéticos sea equivalente al AAV de tipo silvestre. El ADN de AAV de tipo silvestre y de vectores basados en AAV persiste en las células transducidas como concatémeros episomales circulares (extracromosómicos) en tejidos humanos (Chen et al. 2005, Penaud-Budloo et al. 2008, Schnepf et al. 2005, Schnepf et al. 2009). No obstante, dada la ausencia de genes Rep y Cap, se espera que AVXS-101 permanezca en las células en forma de episomas y que no se replique ni produzca partículas víricas. El casete de expresión será transcrito y traducido por las enzimas de la célula anfitriona que conducen a la expresión de SMN. En general, los virus del ADN tienen más estabilidad genética que los virus del ARN. Esto puede atribuirse a factores como (a) un ADN más estable termodinámicamente que el ARN, (b) una replicación del ADN mucho menos propensa a errores que la replicación del ARN y (c) la existencia de más mecanismos en la célula anfitriona para reparar errores en el ADN que en el ARN. La recombinación genómica homóloga sólo puede producirse de forma espontánea en la naturaleza entre los genomas víricos de cepas de AAV en circunstancias en las que una célula del organismo anfitrión es infectada a la vez por dos cepas diferentes de AAV y por un virus auxiliar.

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

<p>En caso afirmativo, indique el código del país:</p> <p>BE DE ES FR GB IT NL SE</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: - Número de la notificación: - Estado miembro de la notificación: GB - Número de la notificación: ID de CESP: 647702. Ref. MHRA: 46842/0001/001-0001 - Estado miembro de la notificación BE, DE, ES, IT, NL, SE - Número de la notificación: No disponible todavía 	

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 - Número de la notificación: IND 15.699 	

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

Los vectores de AAV recombinante (rAAV) tienen un buen perfil de seguridad. Su virus parental, el AAV de tipo silvestre, no se asocia a la patología de la enfermedad en humanos y solo puede infectar a humanos y a otros primates. Los vectores rAAV se diseñan de forma que no se incluya ninguno de los genes que codifican la proteína vírica. Por lo tanto, la inducción de una respuesta inmunológica en la célula transducida se reduce al mínimo, lo que permite la expresión a largo plazo del transgén en células transducidas con AAV. Los virus AAV2 y AAV9 de tipo silvestre no pueden replicarse a menos que se encuentren en presencia de un virus auxiliar, como el adenovirus o el virus del herpes. Dado que AVXS-101 no contiene ninguno de los genes víricos necesarios para la replicación (rep, cap) la replicación es defectuosa incluso en presencia de un virus auxiliar. Sólo podría producirse la replicación de AVXS-101 (diseminado) en una hipotética situación en la que una célula estuviera coinfectada con AVXS-101, con AAV de tipo silvestre y con un virus auxiliar. Así pues, está previsto que la patogenicidad de AVXS-101 sea incluso menor que la de sus virus parentales AAV2 o AAV9, que ya se consideran no patógenos. Los efectos de la exposición involuntaria de AVXS-101 en seres

humanos son los mismos que los previstos en los sujetos (pacientes): efectos relacionados con la expresión de la proteína SMN, inducción de respuestas inmunitarias anti-AAV9 y posibles consecuencias de la mutagénesis por inserción y la transmisión vertical. La probabilidad de que estos efectos se produzcan y/o que causen efectos dañinos es insignificante, ya que la exposición involuntaria de los seres humanos a AVXS-101 (infeccioso) solo puede ser de varios órdenes de magnitud inferior a la exposición de los sujetos, debido a la incompetencia de las replications de AVXS-101 y a la limitada cantidad y duración de las infecciones (si se producen) por el AVXS-101 eliminado de 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): Familia de Parvoviridae

ii) Género: Dependovirus

iii) Especie: Virus adenoasociado
iv) Subespecie: N/A
v) Cepa: N/A
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): Serotipos 2 y 9
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"/>	
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

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares 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 , (especifíquense): Humano	
El AAV se ha aislado de primates humanos y no humanos, si bien otros animales pueden ser anfitriones. En concreto, AAV9 se ha aislado de tejidos humanos.	
b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual:	
No aplicable	

5.a) Técnicas de detección

Pruebas serológicas

5.b) Técnicas de identificación

Anticuerpos específicos de serotipo, secuenciación de ADN

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"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese: El AAV de tipo silvestre no está clasificado en los grupos de riesgo 2, 3 o 4 de la Unión Europea (UE) especificados en la Directiva 2000/54/CE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (Apéndice III). Se adscribe con más rigor como un agente biológico del grupo de riesgo 1, definido en la UE como “poco probable que cause enfermedades en seres humanos”. Las únicas secuencias víricas incluidas en el constructo del vector para AVXS-101 son los ITR de AAV2, necesarios tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de rAAV. Por ello, es poco probable que AVXS-101 cause enfermedades en humanos.</p>	

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"/>
<p>En caso afirmativo</p> <p>a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:</p> <p>humanos <input type="checkbox"/></p> <p>animales <input type="checkbox"/></p> <p>plantas <input type="checkbox"/></p> <p>otros <input type="checkbox"/></p>		

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 humanos son comunes, no se conoce que el AAV sea un virus patógeno en humanos y nunca se ha visto implicado como agente etiológico de enfermedad alguna (Tenenbaum et al., 2003). No se observa casi ninguna respuesta inmunitaria innata humana en la infección por AAV (Zaiss et al., 2002) y en el nivel adaptativo consta principalmente de una respuesta humoral. Los anticuerpos preexistentes en los pacientes a causa de una infección anterior son los responsables de la respuesta humoral observada hacia el AAV. Se han documentado respuestas mediadas por células a vectores del AAV, pero esta respuesta puede depender de la vía de administración. A pesar de no haber evidencias de patogenicidad, se han realizado correlaciones entre: (i) La presencia de secuencias de ADN vírico del AAV en tejido testicular y en muestras de semen anómalas (Rohde et al., 1999), (ii) la presencia de AAV infeccioso en material embrionario y en epitelio cervical (Burguete et al., 1999). Es difícil establecer una asociación clara a partir de estos estudios, ya que existe una evidencia coincidente de infección por el virus del papiloma humano en la mayoría de los sujetos, y que el ADN del AAV se puede detectar en muestras cervicales de la mayoría de las mujeres (Burguete et al., 1999), pero depende en gran medida de las diferencias de la recolección de las muestras entre los estudios (Erles et al., 2001). Otro riesgo teórico de infección por AAV es el riesgo de mutagénesis por inserción causada por la integración no específica del sitio del genoma del AAV en el genoma de las células anfitrionas infectadas. Hay informes contradictorios respecto a la asociación de la integración del genoma del AAV2 de tipo silvestre con la inducción del carcinoma hepatocelular en un pequeño subconjunto de pacientes. Sin embargo, hay varios estudios que contradicen estas afirmaciones, como; a) el AAV2 ha infectado aproximadamente al 90% de la población humana, b) el AAV2 ha demostrado poseer una actividad anticancerosa, c) las evidencias epidemiológica sugieren que la infección por AAV2 juega un papel protector contra el carcinoma cervical, y d) los serotipos de AAV, incluyendo los AAV2 y AAV9 recombinantes, se han usado o se usan en la actualidad en 162 ensayos clínicos hasta la fecha 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 de AAV2 y AAV9 en un anfitrión infectado depende de la coinfección con un virus auxiliar como el adenovirus, y el tiempo de generación del AAV de tipo silvestre en un ecosistema natural varía 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 <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: Célula anfitriona permisiva, la reproducción del AAV de tipo silvestre depende de la coinfección con un virus auxiliar (como 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 (especifíquense)	<input type="checkbox"/>
	Tras la infección de las células por los AAV, sus genomas forman concatémicos que permanecen en forma episomática durante largos periodos de tiempo.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia
El AAV es un virus sin envoltura relativamente estable en el medioambiente y estable a la desecación. El AAV es sensible a desinfectantes viricidas adecuados, como una solución de cloro de 1000 PPM. La replicación del AAV de tipo silvestre depende de la coinfección de virus auxiliares como el adenovirus o el virus del herpes simple. En presencia del virus auxiliar, el AAV sufre una infección productiva caracterizada por la replicación del genoma, la expresión del gen vírico y la producción del virión. En ausencia de una coinfección con el virus del herpes, el ADN del virus persistirá dentro de las células infectadas como episoma o se integrará en el genoma de la célula anfitriona. En ambos casos, el virus permanece latente.

10.a) Vías de diseminación

La dispersión (diseminación) del AAV no se ha documentado de forma definitiva, pero es probable por inhalación (pequeñas gotas de aerosol), contacto con las membranas mucosas (ojos, nariz y boca) transmisión fecal-oral.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Coinfección con un virus auxiliar.

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)

Ninguno

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 compuesto por una envoltura de la cápside del serotipo 9 (AAV9) del virus adenoasociado no replicante, no integrador, recombinante, autocomplementario, que contiene el ADNc del gen SMN humano bajo el control del activador de citomegalovirus (CMV)/promotor híbrido de β -actina de pollo (CB), así como dos repeticiones terminales invertidas (ITR) del ADN del serotipo 2 de AAV (AAV2). La ITR izquierda del AAV se ha modificado para fomentar el apareamiento intramolecular del transgén, formando así un transgén bicatenario listo para la transcripción. Se ha demostrado que esta ITR modificada, denominada ITR “autocomplementaria” (sc), aumenta significativamente la velocidad con la que se transcribe el transgén y se produce la proteína SMN humana resultante. Puede utilizarse el scAAV recombinante para AVXS-101 debido al pequeño tamaño del gen SMN, que permite un empaquetamiento y una transferencia génica eficientes con titulaciones víricas más reducidas en comparación con los vectores monocatenarios prototípicos del AAV. Todo el ADN del AAV9 de tipo silvestre se ha eliminado y se ha sustituido por los genes anteriormente descritos (las dos ITR son de AAV2). Estas modificaciones hacen que AVXS-101 sea incapaz de replicarse, lo que puede considerarse un posible beneficio para su inocuidad si se compara con los vectores de integración con capacidad de replicación, ya que la dosis total de virus administrada a un paciente se puede controlar cuidadosamente y el riesgo de transmisión no deseada es mínimo.

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) de SMN flanqueado por secuencias de repeticiones terminales invertidas (ITR) de AAV2. El plásmido pSMN que contiene el constructo del vector se creó insertando la secuencia de ADNc de SMN humano en el plásmido pAAV-MCS, que contiene el activador de CMV/promotor de CB, y utiliza el intrón del virus de simio 40 (SV40) para la expresión de alto nivel y la señal de terminación de poliadenilación (poli A) de la hormona de crecimiento bovina (BGH). Las únicas secuencias víricas incluidas en este constructo del vector son los ITR de AAV2, necesarios tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de rAAV. Una modificación en 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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: En AVXS-101 no hay genes de resistencia a antibióticos. No obstante, los genes resistentes a la kanamicina están presentes en los plásmidos que se utilizan en el proceso de fabricación de AVXS-101.	

e) Fragmentos constituyentes del vector

El principio activo del AVXS 101 se produce mediante la transfección de células HEK293 con 3 plásmidos distintos.

Plásmido pSMN

El genoma del vector AAV obtenido de pSMN es un genoma de ADN autocomplementario, con repeticiones terminales invertidas (ITR) obtenidas de AAV2 que flanquean 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 ITR son las únicas secuencias víricas incluidas en este vector, y son necesarias para la replicación del ADN vírico y el empaquetamiento del genoma del vector rAAV. El casete génico está bajo el control del activador del CMV/promotor híbrido de β -actina de pollo obtenido del plásmido pAAV-MCS. Se incluye el intrón tardío 16S de SV40 para una expresión génica eficiente, así como la señal de terminación de poliadenilación de la hormona de crecimiento bovina. Estos 2 elementos se amplificaron por PCR a partir del plásmido pscAAV.CMV.GFP-. El ADNc de la supervivencia de la neurona motora humana correspondiente al ARNm maduro se clonó en el plásmido del vector AAV autocomplementario obtenido de pAAV-MCS. Se realizó una 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 de tipo silvestre desde el serotipo 2 y las 3 proteínas de la cápside de la proteína vírica de AAV desde el tipo silvestre del serotipo 9. La identidad del gen de la cápside de AAV9 (Cap9) se confirmó por secuenciación del plásmido de ADN y el mapa de restricción de digestión para cada banco primario de células y de células de trabajo.

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 del adenovirus que son importantes para la replicación del AAV, concretamente E2A, E4 y ARN de AV (las funciones de adenovirus E1 las proporcionan las células HEK293), pero no contiene otros genes de replicación o estructurales del adenovirus. Las secuencias del adenovirus presentes en este plásmido representan aproximadamente el 28% (9.280/35.938) del genoma del adenovirus, y no contienen los elementos cis críticos para la replicación, como las ITR. Por lo tanto, no se espera que se genere un adenovirus infeccioso a partir de este sistema de producción. La identidad de estos 3 genes del adenovirus se confirmó mediante secuenciación del ADN en la reserva de origen del plásmido. El análisis del ADN reveló una homología del 100% con las 3 regiones del gen del adenovirus tipo 5.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense) transfección

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 constructo del vector contiene el casete de expresión de ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) de SMN flanqueado por secuencias de repeticiones terminales invertidas (ITR) de AAV2. El plásmido pSMN que contiene el constructo del vector se creó insertando la secuencia de ADNc de SMN humano en el plásmido pAAV-MCS, que contiene el activador de CMV/promotor de CB, y utiliza el intrón del virus de simio 40 (SV40) para la expresión de alto nivel y la señal de terminación de poliadenilación (poli A) de la hormona de crecimiento bovina (BGH). Las únicas secuencias víricas incluidas en este constructo del vector son los ITR de AAV2, necesarios tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector de rAAV. Una modificación en la ITR “izquierda” permite la producción de genomas autocomplementarios ([McCarty 2008](#)). Durante el proceso de fabricación de AVXS-101, esta secuencia de construcción del vector se encapsida en viriones de AAV9.

Figura 1: Constructo del vector



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

Tabla SEQ Table * ARABIC 1 Posición de las características de la secuencia de ADN para el plásmido AVXS-101

Componente	Descripción	Propósito
Repetición terminal invertida (ITR) "izquierda" de AAV2 mutado	Modificación de McCarty de la ITR "izquierda" eliminando el sitio de resolución terminal para permitir la formación en horquilla del genoma	Producir vectores autocomplementarios (sc) de segunda generación para aprovechar al máximo la potencia del vector y dosis sistémicas más bajas
Activador de citomegalovirus (CMV)/Promotor del híbrido de β -actina de pollo (CB)	Parte del activador inmediato/temprano del CMV Promotor principal de la β -actina de pollo	Expresión SMN constitutiva de alto nivel
Intrón de SV40	Intrón del virus de simio 40 (con mejora demostrada de la acumulación de niveles estables de ARNm para la traducción)	Característica común en el vector génico para una mayor expresión génica
ADNc de SMN humano	Nº de registro de Genbank NM_017411 (diferencia de un nucleótido en la región relevante)	Expresar la proteína SMN de longitud completa
Señal de terminación de poliadenilación (Poly A) de la hormona del crecimiento bovina (BGH)	Señal de poliadenilación de la hormona del crecimiento bovina	Poliadenilación eficaz del ARNm de SMN (señal de terminación de la transcripción) para una expresión génica eficiente y de alto nivel
ITR de AAV2 "derecho"	ITR de AAV2 sin modificar	Necesario en el <i>cis</i> , tanto para la replicación del ADN vírico como para el empaquetamiento del genoma del vector rAAV

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG
Consulte la tabla anterior en (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): N/A
iii) Género: Homo
iv) Especie: sapiens
v) Subespecie: sapiens

vi) Cepa: N/A
vii) Cultivar/línea de reproducción: N/A
viii) Patovar: N/A
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 <input type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
-----------------------------	-----------------------------	-------------------------------------

No procede, ya que la transferencia es una proteína humana (SMN) a humanos

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: Las partículas de virus de AVXS-101 tienen características de supervivencia ex vivo en un medioambiente abierto parecido al AAV9 de tipo silvestre, ya que la partícula de la cápside de AVXS-101 es similar a la de AAV9.</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: Debido a la eliminación de los genes rep y cap, AVXS-101 no puede reproducirse ni replicarse, ni siquiera en presencia de un virus auxiliar de AAV de tipo silvestre (adenovirus)</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Las proteínas de la cápside vírica presentan la misma diseminación/tropismo que el virus AAV9 parental. Sin embargo, puesto que AVXS-101 no puede replicarse, la diseminación se limita a la administración de AVSX-101 al paciente y al derrame involuntario.</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: Ni el AAV de tipo silvestre ni el AVXS-101 son patógenos para los humanos o el medioambiente. Además, dado que AVXS-101 no puede replicarse, no puede introducir un ciclo infeccioso, ni siquiera en presencia de la función auxiliar.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Todas las pruebas de identidad, pureza y calidad han confirmado la estabilidad de AVXS-101. Tras su administración en sujetos humanos, AVS-101 infecta las células

objetivo, pero no se forman nuevas partículas del virus. En la célula, se ensamblan varios genomas de AVXS-101 se ensamblan para formar concatémeros de ADN bicatenario más grandes. Estos concatémeros persisten en la célula como estructuras episómicas estables y son transcripcionalmente activos. En ausencia de un mecanismo intrínseco para la variación o inestabilidad genética, y en base a la estabilidad genética conocida del AAV de tipo silvestre, 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

Anexo III A, epígrafe II(A)(11)(d). Los datos preclínicos indican que, en la mayoría de los casos, el ADN administrado por vectores de AAV recombinantes persiste predominantemente como elementos extracromosómicos (episomas) en lugar de integrarse en los genomas de las células anfitrionas (McCarty, et al., 2004). Aunque tampoco se espera que AVXS-101 se integre en el genoma de la célula anfitriona, como se describía anteriormente, las consecuencias a largo plazo de la administración de vectores víricos de AAV a humanos todavía no se entienden por completo. Dado que el producto AVXS-101 usa un AAV9 al que se ha eliminado de las cápsidas todo el ADN de tipo silvestre, excepto las repeticiones terminales invertidas de AAV2, se cree que el posible riesgo de la incorporación de AVXS-101 al ADN cromosómico del paciente se ve significativamente reducido.

Es posible que el vector AAV9 que contiene el gen SMN pueda interactuar con otros virus con los que entran en contacto los pacientes, como rinovirus, adenovirus o herpes. Si sucediera esto, el vector AAV9 podría formar un virus que causara infección si el paciente y las células para el rescate, la replicación y el empaquetamiento también se ven expuestos a AAV2 de tipo silvestre. El rescate, la replicación y el empaquetamiento se detendrían, sin embargo, al ser eliminados los virus auxiliares, como los rinovirus, los adenovirus o el herpes, por el sistema inmunológico del paciente. Este escenario poco probable ha sido estudiado. En el cultivo celular, el genoma de rAAV se puede rescatar y replicar por superinfección con wtAAV y un virus auxiliar. No obstante, 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 de wtAAV y adenovirus en un entorno particular (Afione et al., 1996). Por lo tanto, el riesgo de interacción de AAV9 con otros virus para causar una infección parece ser mínimo para AVXS-101.

AVXS-101 se ha utilizado en un estudio clínico (AVXS-101-CL-101) con 15 pacientes; en este momento no se comprenden bien todos los riesgos.

Los pacientes pueden experimentar una respuesta alérgica a AVXS-101. Es probable que los pacientes desarrollen una respuesta inmunitaria al vector vírico AAV9 que pudiera interferir o evitar el uso futuro de transferencias génicas usando AAV9 como vector vírico.

Algunos ratones afectados por una forma de AME de tipo 1 que fueron tratados con el vector del estudio desarrollaron necrosis vascular localizada alrededor del pabellón auricular, denominada oreja necrótica. Se cree que esto no está relacionado con el vector y que probablemente se relaciona con un defecto subyacente que se ha observado que se produce en varios modelos de AME en ratón (Narver et al. 2008). Se desconoce la relevancia en seres humanos con atrofia muscular espinal.

Algunos ratones afectados con AME de tipo 1 tratados con AVXS-101 experimentaron cambios en las enzimas de la función hepática y también un leve deterioro y reparación de los tejidos en el corazón y el hígado; los cambios en el corazón y el hígado sólo eran visibles mediante microscopio. Es probable que AVXS-101 exprese la proteína SMN en muchos tipos diferentes de células además de las neuronas motoras. Si bien la expresión de la proteína SMN en muchos tipos diferentes de células en la actualidad no se asocia a ningún impacto negativo, por el momento se desconocen todas las consecuencias.

En los participantes del ensayo AVXS-101-CL-101 se han observado resultados elevados en las pruebas de la función hepática que se cree que reflejan una respuesta inmunitaria de las células T al vector AAV9. En algunos casos, las pruebas de la función hepática con resultados elevado pueden traducirse en acontecimientos adversos graves. En general, un aumento prolongado de las enzimas hepáticas puede ser indicativo de un daño hepático significativo desde un punto de vista clínico. Sin embargo, ninguna de las anomalías en las enzimas hepáticas observadas en el estudio AVXS-101-CL-101 estuvo acompañada de síntomas clínicos, y todos los casos hasta la fecha se han resuelto con un tratamiento con prednisolona, generalmente a corto plazo.

II(C)(2)(i) AVXS-101 es un vector no replicante, y la administración de AVXS-101 a pacientes se asocia a una exposición limitada del medioambiente a AVXS-10. En consecuencia, no es previsible una exposición a plantas o animales. AVXS-101 no es patógeno y no se sabe que la proteína SMN humana tenga efectos tóxicos. No se han comunicado efectos secundarios para el medioambiente o la salud humana a consecuencia de la liberación de OMG similares (virus adenoasociados de los serotipos 2 y 9). La eliminación del vector puede tener lugar en la sangre, la orina, la saliva y las heces durante algunas semanas después de la inyección. Los riesgos asociados con el vector eliminado no se conocen en este momento, sin embargo, son poco probables, ya que el vector no es infeccioso y no puede replicarse. En cualquier caso, se debe instruir a las familias y a los cuidadores de los pacientes respecto al uso de guantes de protección cuando entren en contacto directo con fluidos corporales y/o desechos del paciente, así como a una higiene adecuada de las manos durante algunas semanas después de la inyección. Además, está prohibido que los pacientes donen 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 Droplet Digital o ddPCR con cebadores y sonda específicos para el gen SMN en AVXS-101. Sin embargo, esta técnica solo es aplicable si se puede recuperar suficiente ADN para el análisis.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:
PCR Droplet Digital o ddPCR con cebadores y sonda específicos para el gen SMN en AVXS-101, enzimoimmunoensayo de absorción de puntos (Elispot)– Una respuesta de las células T a AAV se detectará por la sangre. Enzimoimmunoensayo de absorción (ELISA): los anticuerpos de AAV se detectarán mediante ELISA a partir del suero

F. Información sobre la liberación

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

La finalidad de esta liberación es llevar a cabo un estudio clínico de fase 3 diseñado como terapia de sustitución génica abierta, de grupo único, dosis única, para pacientes con SMN de tipo I con una o dos copias de 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 <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: AVXS-101 se administrará por vía intravenosa a pacientes con SMN de tipo I en varios centros. Está previsto que la eliminación del ADN del vector en la orina, la saliva o las heces tenga lugar después de unas semanas, no obstante, se ha demostrado que los vectores basados en 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 Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España
b) Área del lugar (m ²): N/A (i) lugar real de la liberación (m ²): (ii) área de liberación más amplia (m ²):
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede, dado que el material eliminado, 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: Se prevé que hasta 30 pacientes se inscribirán en el estudio clínico abierto, de grupo único, multicéntrico de fase 3 propuesto. Está previsto que, en un centro determinado, hasta 5 pacientes reciban la dosis propuesta. Los pacientes recibirán una única dosis de AVXS 101 a 1,1 X 10 ¹⁴ vg/kg, una dosis que se determina como equivalente a la dosis recibida por los pacientes de la cohorte 2 del estudio de fase 1 (AVXS-101-CL-101) mediante pruebas directas con métodos analíticos mejorados. Se determinará número y el tamaño adecuado de los viales para cada paciente en función de su peso corporal, así como de la titulación del producto para el lote específico de AVXS-101. Las cantidades que se liberarán en el medioambiente por la eliminación serán una proporción muy pequeña del número total de genomas víricos inyectados, de los

cuales la mayoría, si no todos, no son infecciosos. AVXS 101 es detectable en las muestras de eliminación a partir del día 1 después de la inyección. En el estudio de fase 1, a los cinco pacientes analizados se les administró 2E14 vg/kg. Las concentraciones de eliminación del vector en la saliva y en la orina son bastante bajas y se sitúan por debajo de los límites de cuantificación por ddPCR en las matrices días después de la administración de la dosis. Si bien inicialmente se concentraba en las heces, la cantidad de la eliminación del vector disminuye logarítmicamente. Niveles de 10,0–100,0% de la concentración de, a dosis son detectables en las heces hasta 14 días después de la administración. Estas concentraciones disminuyen aproximadamente 4 unidades logarítmicas durante los 30 días posteriores a la administración de la dosis, y todos los pacientes presentaban niveles de AVXS 101 en las heces por debajo del límite de cuantificación 60 días después de la administración. En orina y saliva se encuentran niveles que representan un 0,1–0,01% de la dosis inicial en el paciente 1 día después de la administración, después de lo cual los niveles de AVXS 101 eliminados en estas matrices se encuentran por debajo del límite de cuantificación del ensayo. En conjunto, estos datos demuestran una rápida reducción de las cantidades del vector eliminado muy por debajo de las concentraciones de la dosificación de los pacientes tratados con AVXS 101.

b) Duración de la operación:

Se espera que el procedimiento de administración completo, incluyendo preparación del sistema de infusión, tarde menos de 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 implicado del centro sobre las mejores prácticas de seguridad biológica, que se aplicarán durante la preparación en la farmacia, el transporte y la sala de administración, precauciones durante la administración y eliminación de cualquier desecho biológico. En esta formación se incluye, entre otros aspectos, el uso de ropa de protección adaptada, guantes y gafas, la presencia constante de un kit para derrames y la descontaminación de los desechos antes de su eliminación.

El equipo de protección personal (EPP) debe incluir:

- Guantes (preferiblemente doble guante)
- gafas protectoras
- bata de laboratorio
- También debe utilizarse un EPP adecuado para los antebrazos, como cubiertas para las mangas o guantes fijados sobre las mangas de la bata de laboratorio.
- El personal debe abstenerse de trabajar con el AAV si la piel tiene cortes o abrasiones.

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

El ensayo clínico se realizará en hasta 16 centros de investigación en Europa. La preparación e inyección de AVXS-101 se llevará a cabo en salas de hospital controladas medioambientalmente (condiciones ambientales de interior para la administración).

AVXS-101 se transportará congelado y se conservará 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

El ensayo clínico en fase I de AVXS-101 (AVXS-101-CL-101) está realizándose en la actualidad en Estados Unidos. El objetivo del tratamiento con AVXS-101 es aumentar el nivel de expresión de la proteína SMN en las neuronas motoras antes de que se desarrollen lesiones irreversibles y se produzca una pérdida de neuronas motoras, modificando de esta manera el fenotipo de AME del paciente para que tenga un curso más leve, con una mejor calidad de vida y una mayor supervivencia. Un estudio clínico (AVXS-101-CL-101) realizado en pacientes de tipo 1 de <9 meses de edad ha demostrado una mayor supervivencia, con el 100% mostrando una supervivencia de más de 13,6 meses de edad, momento en el que solo el 25% de pacientes sobreviven, según los datos recientes de la historia natural (Finkel y otros 2014). A 20 de enero de 2017, todos los pacientes experimentaron una mejoría en la función motora en relación con su evaluación inicial, según las mediciones realizadas con el Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders, CHOP INTEND, una prueba desarrollada para medir las habilidades motoras de pacientes con AME de tipo 1. Además, los pacientes de la cohorte de la dosis terapéutica propuesta lograron y mantuvieron de forma constante las fases de desarrollo motoras clave que, esencialmente, nunca se observan en los datos de historia natural, como el apoyo de la cabeza, rodar, sentarse con y sin apoyo, permanecer de pie y caminar sin ayudas (De Sanctis et al. 2016). AVXS-101 parece tener un perfil de seguridad favorable y generalmente es bien tolerado.

En los datos de valor de corte más recientes (7 de agosto de 2017), AVXS-101 sigue mostrando un perfil favorable de seguridad y tolerabilidad y más mejoras en la eficacia. A partir del 7 de agosto de 2017, los pacientes tratados con AVXS-101 siguieron mostrando un mejor estado nutricional, incluyendo una menor necesidad de alimentación asistida (por ejemplo, tubo gástrico, tubo nasojunal), mejoría de la función motora y logro de fases de desarrollo, como sentarse sin ayuda. Los principales hallazgos respecto a la eficacia relacionados con la función motora (cuando todos los pacientes tratados alcanzaron los 20 meses de edad o más después de la terapia génica) y la descripción de los datos de seguridad se encuentran en el artículo de Mendell et al., 2017.

Es importante resaltar que AVXS-101 no es patógeno y que no se conoce que la proteína humana SMN tenga efectos tóxicos.

No se han comunicado efectos secundarios para el medioambiente o la salud humana después de la liberación de OMG similares (virus adenoasociados de los serotipos 2 y 9). La eliminación del vector se puede realizar en la orina, la saliva y las heces durante algunas semanas después de la inyección. Los riesgos asociados con el vector eliminado no se conocen en este momento, sin embargo, son poco probables, ya que el vector no es infeccioso y no puede replicarse. De todos modos, se deben proporcionar instrucciones a las familias de pacientes y cuidadores con respecto al uso de guantes de protección cuando entren en contacto directo con fluidos corporales y/o desechos del paciente, así como a una buena higiene de las manos durante un mínimo de dos semanas después de la inyección.

Además, está prohibido que los pacientes donen 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): N/A
ii) Familia (plantas): N/A
iii) Género: Dependovirus
iv) Especie: Virus adenoasociado (vector vírico deficiente para la replicación derivado del AAV9 que contiene ADNc del gen SMN humano)
v) Subespecies: A
vi) Cepa: N/A
vii) Cultivar/Línea de reproducción: N/A
viii) Patovar: N/A
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 una vía de dosificación para la infusión IV y una determinación eficaz de las características centrales y sistémicas. AVXS-101 se dirige de forma específica a las neuronas motoras y el inicio del efecto tiene lugar rápidamente. Se espera que el vector del ADN persista en la célula transducida mediante la formación de concatémeros episómicos.

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

No se espera ninguna para 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: AVXS-101 no puede replicarse y, por lo tanto, no está prevista su diseminación ni selección.		

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

Si bien AVXS-101 en teoría podría infectar las células de otros mamíferos, no es capaz de iniciar un ciclo productivo de replicación y, por lo 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
No aplicable

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:
La probabilidad de intercambio genético con otros organismos en el ecosistema de liberación es despreciable. AVXS-101 es un vector no replicante, y la administración de AVXS-101 a los pacientes se asocia a una exposición limitada del medioambiente a AVXS-101. Incluso si AVXS-101 se libera en el medioambiente mediante su eliminación, dado al reducido número de copias de ADN del vector, la transferencia horizontal de genes es muy poco probable. Incluso si se produjera la 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 procariótico, ni ningún gen o genes de resistencia a antibióticos ni de otro tipo de resistencia, lo que mejoraría o limitaría su crecimiento. Por lo tanto, es poco probable que AVXS-101 afecte a la dinámica natural de las poblaciones microbianas o a los ciclos biogeoquímicos en ningún lugar del medioambiente.

b) De otros organismos al OMG:
Despreciable. Dado que AVXS-101 contiene las secuencias ITR de AAV2, existe una posibilidad (remota) de que se produzca una recombinación homóloga del vector con el AAV2 de tipo silvestre en caso de coinfección en las personas expuestas. El resultado de tal recombinación sería que AVXS-101 obtendría genes funcionales del AAV2, necesarios para la replicación y la encapsidación, pero al mismo tiempo perdería el transgén. Por lo tanto, la recombinación se traduciría en la formación de virus que son idénticos al material de partida y que no pueden replicarse.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:
Expresión de la proteína hSMN.

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)

No se conoce ni se prevé ninguna, ya que no se sabe que el AAV de tipo silvestre esté involucrado en ningún proceso biogeoquímico.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

AVXS-101 se puede monitorizar mediante un ensayo ddPCR, usando cebadores y sonda específicos para el gen SMN.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No se considera necesario realizar ninguna monitorización.

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 hay programada ninguna monitorización. Se puede utilizar el ensayo de ddPCR existente utilizado en los estudios clínicos y no clínicos.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No aplicable. Después de la administración sólo se monitorizarán los fluidos corporales del sujeto.

5. Duración del seguimiento

Se obtendrán muestras biológicas (saliva, orina y heces) para los estudios de eliminación vírica y se monitorizarán durante 30 días.

6. Frecuencia del seguimiento

Se obtendrán muestras biológicas para los estudios de diseminación vírica 24 horas después de la administración, 48 horas después de la administración, el Día 7, el Día 14, el Día 21 y el Día 30.

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 la intervención deberá limpiarse siguiendo los procedimientos estándar de su institución.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Dado que el fabricante suministrará AVXS-101 a la farmacia del hospital en función del número de sujetos, no debería sobrar nada en el centro hospitalario después de su administración a los pacientes. Todos los viales abiertos o el material no utilizado debe precintarse en contenedores a prueba de fugas y devolverse a AveXis o al depósito que se indique.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Viales vacíos y viales usados y los componentes del sistema de administración utilizados (tubo guía, cánula, agujas y jeringas de la de inyección), gasas, equipo de protección personal (por ejemplo, guantes, etc.) y componentes 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 en la inyección, incluyendo los paños quirúrgicos, las agujas y las jeringas que hayan entrado en contacto con el vector, deben precintarse en recipientes a prueba de fugas. Todos los desechos deben precintarse en bolsas, llevar el símbolo de riesgo biológico y desecharse en un contenedor para residuos biológicos peligrosos. Todas las transferencias deben realizarse en recipientes a prueba de derrames. Se exigirá a las personas que manipulan el vector que utilicen un equipo de protección personal, como guantes. El Investigador no proporcionará bajo ninguna circunstancia AVXS-101 a un tercero ni permitirá que AVXS-101 se utilice de otra forma que no sea la indicada en este protocolo del ensayo clínico, ni eliminará AVXS-101 de cualquier manera que no sea la indicada.

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 un derrame accidental de AVXS-101 (por ejemplo, en el banco de trabajo o en el suelo), se seguirán las instrucciones dadas por el manual de Farmacia del promotor para contener e, inmediatamente, desinfectar el derrame y evitar que siga propagándose. En caso de un derrame accidental de AVXS-101 (por

ejemplo, en el banco de trabajo o en el suelo), se seguirán los procedimientos descritos en el manual de Farmacia del promotor para contener e, inmediatamente, desinfectar el derrame y evitar que siga propagándose. Para descontaminar las zonas afectadas (por ejemplo, para la erradicación de los OMG), los derrames que se produzcan en el quirófano se limpiarán con una solución de lejía, de acuerdo con las directrices de los Institutos Nacionales de la Salud/Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades para la manipulación de agentes de seguridad biológica de nivel 1 y del manual de Farmacia. Todos los materiales contaminados se eliminarán localmente mediante incineración o autoclave. El resto de zonas se limpiará de acuerdo con los procedimientos de descontaminación normales.

1. Evacúe el área, elimine el equipo de protección personal contaminado y deje que los agentes se asienten durante un mínimo de 30 minutos. Inicie el procedimiento de respuesta al derrame.
2. Cubra el derrame con material absorbente comenzando por los bordes y avanzando hacia el centro.
3. Vierta el desinfectante cuidadosamente (solución de lejía seguida de toallitas con alcohol) sobre el derrame ya absorbido, comenzando nuevamente por los bordes. Sature el área con desinfectante.
4. Permita un tiempo de contacto suficiente para que se inactive el material del derrame. Los derrames no viscosos requieren 15-20 minutos: los derrames viscosos requieren 30 minutos.
5. Use toallas de papel para limpiar el derrame, comenzando desde el borde hacia el centro. Use pinzas o unos fórceps para recoger plásticos rotos, vidrio u otros objetos cortantes que pudieran perforar los guantes
6. Deseche el material absorbente en bolsas para desechos químicos.
7. Limpie el área del derrame con toallas de papel empapadas en desinfectante. Moje bien el área del derrame, dejando que se desinfecte durante 15-20 minutos más, y limpie con toallas.
8. Deseche todos los materiales empleados en la limpieza (empapados con desinfectante) en una bolsa/recipiente para productos químicos, y cualquier equipo de protección personal contaminado en una bolsa de riesgo biológico. Cierre y asegure las bolsas.
9. Introduzca la bolsa en una segunda bolsa de riesgo biológico, ciérrela y deséchela de acuerdo con las directrices de su institución para desechos de peligro biológico.

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

Consulte arriba el punto 1; todos los materiales utilizados en la limpieza de derrames se eliminarán como desechos clínicos y se incinerarán.

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 procede (ya que no se espera la exposición de plantas o animales).

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

Se le deben proporcionar a la familia y al cuidador del paciente las instrucciones aprobadas por el Consejo de revisión institucional/Comité ético independiente relativas al uso de guantes de protección si van a entrar en contacto directo con los fluidos corporales y/o desechos del paciente, así como de la necesidad de una higiene de manos correcta durante un mínimo de cuatro semanas después del tratamiento de sustitución génica. Además, se debe prohibir a los pacientes que donen sangre durante dos años después de la infusión del vector.