

**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/20/05
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	12 de febrero de 2020
d) Título del proyecto:	Un estudio de fase 1/2 abierto, de escalada de dosis para determinar la seguridad y eficacia de BMN 307, una transferencia génica mediada por vectores de virus adenoasociados de fenilalanina hidroxilasa humana en pacientes con niveles de fenilcetonuria y Phe en plasma > 600 µmol/L
e) Período propuesto para la liberación:	Desde marzo de 2020 hasta marzo de 2025

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	BioMarin Pharmaceutical Inc. 105 Digital Drive, Novato, CA, 94949, EE.UU.
-------------------------------------	---

**3. Definición del OMG**

BMN 307 es una terapia génica *in vivo* destinada al tratamiento de la fenilcetonuria (PKU).

Este vector recombinante e incompetente para la replicación (BMN 307) es un organismo modificado genéticamente (OMG) basado en un virus adenoasociado (AAV, por sus siglas en inglés) de serotipo 5 (AAV5) que contiene una secuencia con optimización codónica que codifica la fenilalanina hidroxilasa humana (hPAH).

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) ...

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: *Dependoparvovirus*,

Especie: *Virus adenoasociado/serotipo 5 (AAV 5)*

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 BMN 307 sea similar a la del AAV silvestre. Tras una infección por AAV silvestre, los genomas virales persisten en los tejidos humanos principalmente en forma de episomas circulares. De manera análoga al AAV silvestre, los genomas monocatenarios de vectores basados en AAV se transforman en episomas monoméricos o concateméricos, circularizados y bicatenarios, tras infectar una célula. Estas formas estables de ADN mantienen la expresión del transgén a largo plazo.

Determinados AAV silvestres pueden integrarse de manera estable en un locus específico del genoma de la célula hospedadora (AAVS1 en el brazo largo del cromosoma 19 humano); pero incluso en caso de integración, siguen siendo no patógenos. Por el contrario, debido a la falta de los genes *rep* y *cap* virales, los AAV recombinantes (como BMN 307) han perdido la capacidad de integración en lugares específicos del genoma de la célula hospedadora y cabe esperar que sigan presentes en las células en formas episómicas. La ausencia de los genes *rep* y *cap* del AAV en el genoma de BMN 307 también significa que el vector no puede replicarse y producir partículas virales, ni siquiera en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus (a diferencia de su organismo parental, AAV5).

En general, los virus de ADN presentan mayor estabilidad genética que los virus de ARN. El ADN es más estable termodinámicamente que el ARN y la replicación del ADN es un proceso menos propenso a los errores que la replicación del ARN.

La estabilidad genética de BMN 307 está respaldada por su producción conforme a las normas actuales de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y se verifica mediante ensayos de pureza, potencia y composición. La estabilidad genética se demostró en tres niveles: estabilidad de la secuencia genómica del vector, estabilidad indicada por la producción de proteínas *in vitro* y estabilidad indicada por la producción de proteínas funcionales *in vivo*.

La secuenciación del ADN de BMN 307 demostró que la integridad del genoma del vector se mantiene al final del proceso de fabricación. Un ensayo de potencia basado en células verificó que BMN 307 produce PAH humana *in vitro*, y en estudios con ratones se demostró que BMN 307 produce hPAH funcional de forma proporcional a la dosis, *in vivo*.

BMN 307 carece de capacidad de replicación y se ha sometido a análisis de pureza para demostrar que no presenta AAVs con capacidad de replicación. Podría producirse recombinación homóloga si una célula hospedadora fuera coinfectada por un AAV silvestre, un virus colaborador y el producto farmacéutico (PF) BMN 307, por lo que sería necesaria una triple infección. Esta recombinación solo podría dar lugar al intercambio del casete de expresión de hPAH con los genes *rep* y *cap* del virus natural. No es posible que el genoma del AAV contenga tanto los genes *rep* y *cap* como el transgén, ya que el tamaño de dicho genoma superaría considerablemente el límite de encapsidación del virión.

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"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: UK, IT, DE (tras la evaluación de los Estados miembros)	

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

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

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

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

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: ...
- Número de la notificación: N/A

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

Según el documento *Good Practice on the Assessment of GMO-Related Aspects in the Context of Clinical Trials with AAV Clinical Vectors*, se evalúan los siguientes riesgos y peligros.

### Peligros para el medio ambiente:

Al igual que el AAV5 silvestre parental, no se ha demostrado que el vector BMN 307 infecte a ningún organismo del ambiente, excepto a los primates. La ausencia de los genes *rep* y *cap* del AAV en el genoma de BMN 307 también significa que el vector no puede replicarse y producir partículas virales, ni siquiera en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus (a diferencia de su organismo parental, AAV5). Existe la posibilidad de que pueda producirse una transferencia génica a receptores humanos no deseados, pero como la cantidad sería tan baja, el resultado sería insignificante.

### Peligros asociados a la liberación de AAV con capacidad de replicación:

A diferencia del virus parental, el vector carece de capacidad de replicación incluso en presencia de un virus colaborador. La ausencia del genoma del AAV silvestre, con la excepción de dos cortas secuencias de repetición terminal invertida (ITR) del AAV, reduce la probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podría dar lugar a variantes del OMG. La única condición en la que el vector sería capaz de replicarse sería una infección simultánea de la misma célula por el vector, por un AAV silvestre capaz de proporcionar genes *rep* y *cap* compatibles y por un virus colaborador. Se espera que esta situación sea un acontecimiento raro, especialmente porque las células diana del vector (hígado) no son las células diana naturales de los virus colaboradores. Si llegara a producirse, solo daría lugar a la producción de más AAV silvestres y más partículas del vector BMN 307 (que seguirían careciendo de los genes *rep* y *cap* y, en consecuencia, no serían autosostenibles).

### Determinación del riesgo global y conclusiones

Teniendo en cuenta la escasa diversidad de huéspedes, la probabilidad muy baja de adquirir capacidad de replicación y las medidas de control adoptadas por el promotor, los riesgos globales para la salud humana y para el medio ambiente del vector BMN 307 pueden considerarse insignificantes.

**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	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> Serotipo 5 (AAV5) para la cápside
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) ...

Otros, (especifíquense): ...

**2. Nombre**

i) Orden y taxón superior (animales): ...
ii) Género: <b>Dependoparvovirus</b>
iii) Especie: <b>Virus adenoasociado</b>
iv) Subespecie: <b>serotipo 5 (AAV5)</b>
v) Cepa: ...
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): ...
vii) Nombre vulgar: <b>Virus adenoasociado</b>

**3. Distribución geográfica del organismo**

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:

Sí                       No                       No se sabe

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?

Sí

No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?

Sí

No

#### 4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense):

Los hospedadores específicos son seres humanos y primates no humanos.

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: **No procede**

5. a) Técnicas de detección

La presencia de AAV puede detectarse en muestras clínicas de tres formas:

1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
2. Cultivo vírico.
3. Métodos de enzimoanálisis de adsorción (ELISA).

5. b) Técnicas de identificación

Véase 5a

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

No

En caso afirmativo, especifíquese:

En la Unión Europea (UE), el AAV silvestre no figura en el anexo III de la Directiva 2000/54/CE (sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo), ya que en la lista de agentes clasificados solo se incluyen los agentes que se sabe que infectan a los seres humanos. Por consiguiente, el AAV silvestre puede designarse como agente biológico del grupo de riesgo 1, definido en la UE como «un agente biológico que resulta poco probable que cause enfermedad en el hombre».

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

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.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El AAV5 requiere la coinfección de un virus colaborador, por lo que la replicación en un huésped infectado puede tardar entre 24 y 48 horas, pero no se produce en ausencia de un virus colaborador apropiado.

<p>b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado:</p> <p>El AAV5 requiere la coinfección de un virus colaborador, por lo que la replicación en un huésped infectado puede tardar entre 24 y 48 horas, pero no se produce en ausencia de un virus colaborador apropiado.</p>		
<p>c) Modo de reproducción</p> <p>N/A <input checked="" type="checkbox"/>                      Sexual <input type="checkbox"/>                      Asexual <input type="checkbox"/></p>		
<p>d) Factores que afectan a la reproducción:</p> <p>La única forma en la que un vector de AAV5 podría replicarse sería en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus.</p>		

**9. Capacidad de supervivencia**

<p>a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo</p>		
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"/>
<p>El AAV no forma estructuras de supervivencia, pero puede sobrevivir durante al menos un mes a temperatura ambiente tras su desecación o liofilización.</p>		
<p>b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia</p> <p>La replicación del AAV silvestre depende de la coinfección con virus colaboradores, como adenovirus. El AAV puede seguir sobrevivir durante al menos un mes a temperatura ambiente tras su desecación o liofilización.</p>		

**10. a) Vías de diseminación**

<p>Se cree que el AAV se disemina en la naturaleza por inhalación de gotitas aerosolizadas, contacto con las mucosas o ingestión.</p>
---



**10. b) Factores que afectan a la diseminación**

Las condiciones ambientales que pueden afectar a la supervivencia del AAV5 fuera del huésped son la temperatura, el pH y la humedad ambiental.

**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)	...

**2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética**

El resultado que se pretende obtener mediante las modificaciones genéticas es sustituir el genoma del AAV silvestre por un genoma sintético. Esta sustitución elimina las secuencias génicas *rep* y *cap*, lo que provoca la pérdida de la capacidad de replicación y, en su lugar, introduce el casete de expresión del transgén de la PAH humana, lo que da lugar a la expresión de hPAH funcional en el hígado.

La secuencia de aminoácidos de la PAH humana codificada es idéntica a la del tipo natural; sin embargo, los codones del gen han sido optimizados para mejorar su eficacia en modelos animales. Las otras secuencias del genoma del vector son sintéticas.

**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 checked="" type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	...
b) Identidad del vector:	
<p>BMN 307 se fabrica utilizando un sistema de expresión en vectores de baculovirus mediante la coinfección de células huésped de insectos con baculovirus recombinantes (rBV) que contienen hPAH y rBV que contienen rep/cap. Estos baculovirus se obtienen de bácmidos recombinantes de hPAH y rep/cap. Los bácmidos son ADN bicatenarios circulares que codifica el genoma del rBV. El bácmido de hPAH alberga la secuencia principal del genoma del vector BMN 307. El bácmido de rep/cap contiene los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> del AAV necesarios para la producción de BMN 307.</p> <p>Por tanto, los vectores en este contexto son los bácmidos de hPAH y rep/cap y los rBV hPAH y rep/cap correspondientes.</p>	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
<p>Los bácmidos se construyeron utilizando técnicas de biología molecular estándar y se propagan en células de <i>E. coli</i>. Los rBV infectan y pueden propagarse en células de insectos lepidópteros.</p>	
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:	
e) Fragmentos constituyentes del vector	
<p>El bácmido de hPAH contiene la secuencia principal del genoma del vector BMN 307, constituido por ITRs de AAV y el casete de expresión de hPAH. El bácmido de rep/cap contiene los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> del AAV necesarios para la producción de BMN 307.</p>	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	

- i) transformación
- ii) electroporación
- iii) macroinyección
- iv) microinyección
- v) infección
- vi) otros, (especifíquense) ...**transfección**

Los b́acmidos son transfectados en ćelulas de insectos para generar rBV.

Los rBV infectan a las ćelulas hospedadoras de insectos durante la producci3n de BMN 307.

**5.** Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qu3 m3todo se sigui3 en el proceso de modificaci3n?

- i) transformaci3n
- ii) microinyecci3n
- iii) macroencapsulaci3n
- iv) macroinyecci3n
- v) otros, (especifíquense)

**6.** Informaci3n sobre el fragmento de inserci3n:

a) Composici3n del fragmento de inserci3n:

El casete de expresi3n de hPAH comprende la secuencia de codificaci3n de la PAH humana, bajo el control de un promotor selectivo del h3gado, y termina por una secuencia de poliadenilaci3n. El casete est3 flanqueado por ITRs del AAV.

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserci3n:

La secuencia codificada de amino3cidos de la PAH humana es id3ntica a la del tipo silvestre; sin embargo, la secuencia de codones del gen est3 optimizada para mejorar su eficacia en modelos animales. Las otras secuencias del genoma y el promotor son sint3ticas.

El casete de expresi3n est3 flanqueado por ITRs derivadas del AAV que son necesarias para el rescate y la encapsidaci3n del genoma durante la producci3n.

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG

El casete de expresión está limitado a los elementos necesarios diseñados para optimizar la expresión de la PAH humana funcional bajo el control de un promotor selectivo del hígado y un intrón de origen humano.

Las repeticiones terminales invertidas son necesarias para la encapsidación del genoma del vector y la formación de los concatémicos circulares episómicos en las células infectadas.

d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense): como ADN monocatenario encapsidado en una cápsida de AAV5

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)**

La siguiente información se refiere al organismo del que se deriva el gen insertado y optimizado (hPAH).

**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): ... <i>Primates</i>
ii) Familia (plantas): ... <i>N/A</i>
iii) Género: ... <i>Homo</i>
iv) Especie: ... <i>sapiens</i>
v) Subespecie: ... <i>sapiens</i>
vi) Cepa: ... <i>N/A</i>
vii) Cultivar/línea de reproducción: ... <i>N/A</i>
viii) Patovar: ... <i>N/A</i>
ix) Nombre vulgar: ... <i>Humano</i>

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

Tras una infección por el AAV silvestre, los genomas virales se presentan principalmente como episomas circulares en los tejidos humanos, aunque también puede producirse cierto grado de integración en el genoma del huésped.

### 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 <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>  Especifíquese En caso de diseminación, BMN 307, tendrá características de supervivencia/estabilidad similares a las del virus silvestre (AAV5).
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?  Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/>  Especifíquese: Debido a la falta de los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> , los AAV recombinantes (como BMN 307) han perdido la capacidad de integración en sitios específicos del genoma de la célula hospedadora y se espera que permanezcan presentes en las células en formas episómicas. La ausencia de los genes <i>rep</i> y <i>cap</i> en el genoma de BMN 307 también significa que el vector no puede replicarse y producir partículas virales, ni siquiera en presencia de un virus colaborador, como un adenovirus (a diferencia de su organismo parental, AAV5).

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

Sí                       No                       No se sabe

Especifíquese:

Dado que BMN 307 no puede replicarse, la diseminación se limitará a su administración a los pacientes del estudio clínico.

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

Sí                       No                       No se sabe

Especifíquese:

Ni el AAV5silvestre ni el vector experimental BMN 307 son conocidos como patógenos para los seres humanos.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Se espera que la estabilidad genética de BMN 307 sea similar a la del AAV silvestre. BMN 307 no puede replicarse, ni siquiera en presencia de un virus colaborador, ya que carece de los genes *rep* y *cap* necesarios para el rescate y la encapsidación. Teniendo en cuenta que la actividad terapéutica a largo plazo del fármaco en investigación no depende de la replicación del AAV recombinante y dada la estabilidad genética conocida del AAV parental silvestre, se espera que los rasgos genéticos del organismo sean estables.

Véase también el apartado A.3c

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		
No procede.		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

Pueden utilizarse métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con cebadores específicos del genoma del vector para detectar elementos genéticos del OMG.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

Véase apartado anterior (E. 4-a)

**F. Información sobre la liberación**

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

La finalidad de la liberación es Un estudio de fase 1/2 abierto, de escalada de dosis para determinar la seguridad y eficacia de BMN 307, una transferencia génica mediada por vectores de virus adenoasociados de fenilalanina hidroxilasa humana en pacientes con niveles de fenilcetonuria y Phe en plasma > 600 µmol/L.

Se espera que una sola infusión de BMN 307, a diferencia de otros tratamientos disponibles, reduzca considerablemente las concentraciones plasmáticas de Phe y que, al mismo tiempo, elimine la carga que supone para el paciente la administración diaria de medicación y permita a los pacientes iniciar una dieta sin restricciones manteniendo el control plasmático de Phe, mejorando así la calidad de vida para el paciente.

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:



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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): La administración del producto en investigación tendrá lugar en tres centros clínicos españoles:	
<b>Centro de administración/ investigador</b>	<b>Lugar</b>
Hospital Universitario Virgen del Rocío (Dra. Eva Venegas Moreno)	Avenida Manuel Siurot, 41013 Sevilla, España
Hospital Universitario Cruces (Dr. Luis Aldámiz-Echevarria Azuara)	Plaza de Cruces, Barakaldo, 48903 Bizkaia, España
Hospital Clínico Universitario de Santiago (Dra. María Luz Couce Pico)	Travesía de la Choupana, 15706 Santiago de Compostela, A Coruña, España.
b) Área del lugar (m <sup>2</sup> ): i) lugar real de la liberación (m <sup>2</sup> ): No procede ii) área de liberación más amplia (m <sup>2</sup> ): No procede	
c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede teniendo en cuenta 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: En el estudio 307-201 se tratará a un máximo de 20 pacientes en España. Por tanto, la cantidad máxima de OMG que se puede liberar es de $3,2 \times 10^{17}$ genomas virales (vg), suponiendo un peso medio de los pacientes de 80 kg.
b. Duración de la operación: Tras un período de selección de 28 días, la duración del estudio será de 260 semanas (5 años) como máximo.
c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación: La preparación del producto en investigación tendrá lugar en un entorno hospitalario aprobado. La administración del producto en investigación será realizada por personal cualificado autorizado en cada centro de administración, de acuerdo con la buena práctica clínica y el protocolo del estudio. El modo principal de contención

durante el procedimiento de administración intravenosa (IV) es la aplicación de las precauciones estándar/universales para materiales infecciosos. El personal que manipule el OMG llevará bata de laboratorio, delantal desechable, guantes, protección ocular y mascarilla quirúrgica. Los laboratorios que procesen muestras clínicas, por ejemplo, sangre, adoptarán las precauciones estándar para fluidos corporales. En España no se van a analizar muestras.

Todo el personal que intervenga en la administración del producto en investigación deberá asistir a un curso de formación sobre el método adecuado de administración y participar en un simulacro de la preparación y manipulación antes de administrar la infusión al primer sujeto. Los centros de investigación cumplen todas las directrices de la UE, nacionales y voluntarias sobre la realización de ensayos clínicos, así como las normas de bioseguridad pertinentes exigidas por la EMA para la investigación de medicamentos de terapia génica. El promotor considera que la investigación realizada dentro de este marco mitiga adecuadamente los riesgos de para la salud pública y, por tanto, no se adoptarán medidas adicionales. Solo personal cualificado que esté familiarizado con los procedimientos para reducir al mínimo la exposición indebida, tanto a sí mismo y al medio ambiente, se ocupará de la preparación, manipulación y eliminación segura de BMN 307.

La destrucción del producto en investigación no utilizado y la destrucción o descontaminación de todos los materiales que puedan haber sido contaminados por el producto en investigación se examinan en el apartado de tratamiento de residuos.

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

El ensayo clínico tendrá lugar en España, en salas de tratamiento con condiciones ambientales interiores.

6. 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

Ninguno.

**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 diana (si procede)**

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

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

[BMN 307 es un vector que codifica una forma funcional de la PAH humana. El vector entra en los hepatocitos mediante la unión receptores de superficie de los hepatocitos específicos para la cápsida; a continuación, la cápsida se transloca al núcleo, se elimina la cubierta de las proteínas de la cápsida viral y se libera el ADN, donde se cree que permanece en una forma episómica estable. En el núcleo, el transgén dirigido por el promotor específico del hígado codifica la proteína de PAH humana que permanece en los hepatocitos. Se prevé un proceso similar para otros tipos celulares en los que el vector se distribuye en menor medida.](#)

[En el caso de la transferencia del vector a un receptor humano no deseado, cabe esperar que los riesgos sean considerablemente bajos, ya que el vector no es capaz de replicarse y la "dosis" que posiblemente se transferiría \(de aerosoles, salpicaduras o fómites\) será varios órdenes de magnitud inferior a la recibida por los pacientes.](#)

[La posibilidad de una transferencia involuntaria del vector ha sido examinada \(Croteau, 2004\). En este estudio se administró un vector de AAV en aerosol nebulizado a pacientes con fibrosis quística y se examinó la exposición de los profesionales sanitarios que intervinieron en la administración del vector. Se detectaron niveles bajos de algunas partículas del vector aerotransportadas y se calculó que la dosis estimada a la que estuvieron potencialmente expuestos los profesionales sanitarios era del 0,0006 % de la dosis administrada de  \$10^{13}\$  vg. No se notificaron efectos negativos para la salud y el estado serológico de AAV2 de los profesionales sanitarios no se modificó. La nebulización podría considerarse el "peor caso" para la diseminación del vector a terceros.](#)

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

No se conoce que el AAV5 silvestre infecte a ningún organismo del ambiente, excepto a primates.

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:		

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

Consulte los puntos G(2 y 3). Dado que el OMG carece de capacidad de replicación, si se produjera diseminación desde el lugar de liberación, por ejemplo por excreción por parte de los pacientes, el OMG no podría establecerse en el ecosistema.

La gama de huéspedes o el tropismo celular del OMG están determinados exclusivamente por la cápside, y no se espera que la sustitución del genoma del AAV5 por un genoma sintético, que codifica la hPAH, afecte en modo alguno a la gama de huéspedes ni al tropismo celular.

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 procede

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:

BMN 307 es un virus sin capacidad de replicación derivado del AAV5 silvestre. Las modificaciones genéticas no varían su hospedador natural ni al tropismo tisular. En el ensayo clínico, la transferencia genética de BMN 307 a las células hepáticas para la expresión de proteínas endógenas de hPAH es el mecanismo de acción previsto en los sujetos humanos receptores.

No se prevé la transferencia de material genético entre el OMG y otros organismos.

No es posible que el genoma del AAV contenga tanto los genes *rep* y *cap* como el transgén, ya que el tamaño de dicho genoma superaría considerablemente el límite de encapsidación del virión.

b) De otros organismos al OMG:

En este caso es aplicable el mismo marco teórico descrito anteriormente para el intercambio genético de ADN del OMG con el AAV silvestre.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

No es posible que el genoma del AAV contenga tanto los genes *rep* y *cap* como el transgén, ya que el tamaño de dicho genoma superaría considerablemente el límite de encapsidación del AAV.

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 se han realizado estudios específicos sobre la transmisión de BMN 307 entre seres humanos o animales.

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

Ninguna conocida ni prevista. No se ha demostrado que el AAV participe en ningún proceso biogeoquímico. No respira ni contribuye a los procesos de producción primaria o descomposición. En su forma viriónica no muestra actividad metabólica.

## H. Información sobre el seguimiento

### 1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se hará un seguimiento de la excreción del vector en sangre, saliva, orina, heces y semen en varios momentos después de la administración, mediante PCR.

### 2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No se considera necesario ni se prevé la vigilancia del medio ambiente o de los receptores no deseados.

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

Las muestras corporales se analizarán mediante PCR. Sin embargo, se ha demostrado que el material eliminado no es infeccioso, por lo que no se prevé la transferencia del material genético del paciente a otros organismos.

### 4. Tamaño del área de seguimiento (m<sup>2</sup>)

No procede

### 5. Duración del seguimiento

Los análisis de cada muestra (sangre, saliva, orina y semen) se repetirán hasta que se obtengan al menos tres resultados negativos consecutivos para ese fluido.

El análisis de semen continuará al menos hasta la semana 12, aunque se hayan registrado tres resultados negativos consecutivos antes de ese momento. En el caso de los sujetos que no hayan tenido tres muestras de semen negativas consecutivas antes de la semana 48, tras haber obtenido una primera muestra negativa, deberá obtenerse otras dos muestras de semen para confirmar la negatividad (con una separación aproximada de 1-2 semanas). El análisis de matrices individuales continuará hasta que se documenten tres muestras negativas consecutivas (o tras el acuerdo del investigador y el monitor médico de BioMarin).

### 6. Frecuencia del seguimiento

La duración de los genomas del vector en sangre, saliva, orina, heces y semen se comprobará antes de la infusión, semanalmente hasta la semana 2, quincenalmente desde la semana 2 hasta la semana 4, mensualmente desde la semana 4 hasta la semana 48 y cada tres meses desde la semana 48 hasta la semana 240 después de la administración de BMN 307.

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

### **1. Tratamiento del lugar tras la liberación**

Todos los materiales desechables (incluidos, entre otros, guantes, mascarillas, jeringas, agujas, catéteres y tubos) que entren en contacto con el producto en investigación se eliminarán como residuos biopeligrosos. El OMG sobrante se eliminará también como residuo biopeligroso.

Los materiales, equipos y superficies no desechables deben descontaminarse con un desinfectante totalmente viricida, como solución de hipoclorito sódico al 1-10 %, Virkon al 1-2 % o peróxido de hidrógeno al 6 %.

### **2. Tratamiento del OMG tras la liberación**

El personal del centro de administración hará un seguimiento y documentará la destrucción del producto en investigación sin diluir y sin usar, junto con los residuos generados asociados.

### **3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos**

BMN 307 se administrará mediante una sola infusión intravenosa a adultos y adolescentes de ambos sexos con fenilcetonuria que sean elegibles y den su consentimiento.

Los residuos generados a partir de la preparación e infusión de BMN 307 se limitarán a:

- Viales del producto en investigación usados
- Equipo de preparación utilizado en la farmacia; jeringas, agujas, viales
- Bolsas de infusión y kits de infusión usados
- Bolsas utilizadas para transportar equipos potencialmente contaminados a la farmacia y desde la farmacia
- Torundas y materiales utilizados para limpiar la zona inyectada
- Equipo de protección personal utilizado durante la preparación y administración de la dosis

### **3. (b) Tratamiento de residuos**

BMN 307 es un virus no patógeno sin capacidad de replicación por lo que se considera que presenta un riesgo para la salud humana mucho menor que otros residuos biológicos humanos que se eliminan con frecuencia en instalaciones médicas. BMN 307 es sensible a la inactivación mediante diversos métodos físicos y químicos comúnmente disponibles.

El BMN 307 no utilizado o parcialmente utilizado se conservará en el centro de administración para la contabilidad y el seguimiento del fármaco en investigación. Los demás instrumentos desechables u otros materiales utilizados durante el procedimiento de preparación de la dosis se eliminarán como materiales potencialmente biopeligrosos.

## 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

No se considera necesario ningún procedimiento específico para controlar la diseminación del OMG en caso de liberación inesperada, aparte de la estrategia actual de gestión de riesgos.

Por tanto, la diseminación de BMN 307 a receptores humanos no previstos es muy improbable y se limitaría a casos aislados en localizaciones geográficas concretas. El riesgo de infección generalizada se considera insignificante.

La estrategia actual de gestión de riesgos comprende el uso de almacenamiento seguro para limitar el acceso, la capacitación de todo el personal de los centros, la restricción de la manipulación y la aplicación solo al personal formado, las instrucciones a los pacientes de que utilicen medidas de higiene básicas, el registro de cualquier exposición humana accidental, el uso de la ficha de datos de seguridad del material y el manual de farmacia para facilitar instrucciones sobre el tratamiento de los vertidos (véanse ejemplos en la sección J.2 a continuación).

El potencial de propagación inesperada de BMN 307 en el medio ambiente es insignificante por las siguientes razones:

- El organismo parental, el AAV silvestre, es un *Dependoparvovirus* de ADN monocatenario no patógeno que precisa la coinfección por un virus colaborador para su replicación.
- El OMG, el vector BMN 307, no contiene genes de la cápsida ni de replicación en su genoma, por lo que no puede replicarse, ni siquiera en presencia de un virus colaborador. La única condición en la que el vector BMN 307 sería capaz de replicarse es una infección simultánea de la misma célula por el vector, por un AAV silvestre capaz de proporcionar los genes *rep* y *cap* necesarios y un virus colaborador, como un adenovirus o un virus del herpes simple. Se espera que esta situación sea un acontecimiento raro, especialmente porque las células diana del vector (hígado) no son las células diana naturales de los virus colaboradores. Si llegara a producirse, solo daría lugar a la producción de más AAV silvestre y más partículas del vector BMN 307 (que seguirían careciendo de los genes *rep* y *cap* y, en consecuencia, no serían autosostenibles).
- La administración intravenosa a los pacientes que reúnan las condiciones necesarias será realizada por profesionales médicos autorizados y capacitados en un centro médico.
- Tropismo limitado del virus parental (AAV5) por el huésped (humano/primate)
- Cantidades bajas y decrecientes de ADN del vector no infeccioso en las matrices eliminadas por los sujetos tratados
- Niveles altos de inmunidad adaptativa existente en la población humana

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

La probabilidad de diseminación del vector fuera de la farmacia o el laboratorio del hospital dotados de sistemas de contención es insignificante. En caso de vertido o de dispersión del producto en investigación durante la preparación o administración, deberán llevarse a cabo los procedimientos indicados en la Ficha de Datos de



Seguridad (SDS) y el manual de farmacia del estudio, ambos distribuidos a los centros, de conformidad con las prácticas normalizadas de limpieza de vertidos de residuos biopeligrosos, como los utilizados para tratar posibles patógenos de transmisión hemática.

Los vertidos accidentales se limpiarán de acuerdo con la ficha técnica de seguridad del material y el manual de farmacia. Por ejemplo, según se indica en el manual de farmacia:

- Informe al resto del personal y aisle la zona.
- Si aún no lo lleva puesto, póngase el equipo de protección personal adecuado: delantal, guantes, mascarilla quirúrgica o para procedimientos y gafas o máscara de seguridad.
- Retire el vidrio roto y los objetos punzantes con unas pinzas o una herramienta adecuada y colóquelos en un recipiente para objetos punzantes.
- Descontamine el área del vertido.
  - o Coloque material absorbente sobre el vertido.
  - o Deje actuar durante al menos 5 minutos.
  - o Recoja el material absorbente con un cepillo y tírelo en una bolsa de residuos infecciosos para su eliminación.
  - o Lave la zona con una solución de lejía al 10 % y materiales desechables.

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 será necesaria la descontaminación de plantas, animales (no humanos) y suelos.

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

En el caso de que se produzca cualquier incidencia o accidente se deberá informar de manera inmediata a la CNB y al CIOMG.