

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

Estado miembro de la notificación: España
Número de la notificación: B/ES/21/23
Fecha del acuse de recibo de la notificación: 11Ago2021
Título del proyecto: “Estudio de Fase 3, Aleatorizado, Doble Ciego y Controlado con Placebo de la Transferencia del Gen de la Glucosa-6-fosfatasa Mediada por el Virus Adenoasociado de serotipo 8 en Pacientes con Glucogenosis de Tipo Ia”
Período propuesto para la liberación: Junio 2021- Julio 2022

2. Notificador

<p>2. Nombre de la institución o empresa: Ultragenyx Pharmaceutical, Inc. 60 Leveroni Court Novato CA 94949 USA</p>

3. Definición del 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)

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Dependoparvovirus
Especie: Virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8)

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

El AAV es un virus de ADN monocatenario con una gran estabilidad genética, según pone de manifiesto la estrecha relación existente entre los genes *rep* y *cap* de distintos serotipos y genotipos del AAV. Normalmente, el gen *rep* muestra una mayor conservación de secuencia que el gen *cap*, aunque la homología de secuencias suele ser > 90% y > 80% para los genes *rep* y *cap*, respectivamente. En respaldo de estos datos sobre homología de secuencias está el hecho de que el AAV utiliza una ADN polimerasa del huésped para la replicación viral que no muestra propensión a los errores en comparación con las ARN polimerasas que emplean los virus ARN. En apoyo de la estabilidad genética está la observación de que los episomas de ADN proviral de AAV aislados de diferentes muestras de tejidos humanos poseen sistemáticamente la secuencia *rep* y *cap* canónica esperada de AAV2.

Se cree que se ha producido recombinación homóloga entre los serotipos AAV2 y AAV3 a tenor de un análisis filogénico del virus híbrido AAV2/3, algo que no se ha observado con otros serotipos, lo que respalda que únicamente en la circunstancia presumiblemente rara de que una célula sea infectada de manera simultánea por dos serotipos diferentes de AAV y un virus colaborador (infección triple) se darían las condiciones adecuadas para que se produjera tal recombinación.

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: DK, FR, DE, IT, NL, PT.

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"/>
--	-----------------------------

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: ES, NL
- Número de la notificación: B/ES/18/02 (ES), B/NL/18/003 (NL)

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

Sí

No

En caso afirmativo:

- Estado miembro de la notificación: Canadá, Estados Unidos (EEUU)
- Número de la notificación: NSN No. 19426 (Canadá), NIH Protocolo No. 1706-1617 (EEUU)

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

DTX401 es un vector de virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8) recombinante y sin capacidad de replicación que codifica el gen de la glucosa-6-fosfatasa-(G6PC) humana para el tratamiento de los pacientes con GGIa.

No se espera que la liberación de DTX401, tal como se describe en esta solicitud, tenga un impacto ambiental adverso, por las siguientes razones:

- Ausencia de patogenicidad del virus parental: A pesar de una seroprevalencia estimada de hasta el 90% de algunos serotipos humanos frecuentes, no se han identificado efectos patógenos del AAV. Las modificaciones que han dado lugar a la generación del OMG no han aumentado la patogenicidad (véase el punto "Expresión transgénica específica de tejido").
- OMG sin capacidad de replicación: DTX401 es un vector de AAV recombinante no infeccioso que carece de todos los genes víricos del AAV y no puede replicarse sin funciones auxiliares específicas del AAV y sin la actividad de un virus colaborador. La replicación de DTX401 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped *transducida* resultara *co*-infectada por tres virus distintos (DTX401, AAV natural y un virus colaborador, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple). Si se produjera replicación, los únicos productos esperados serían el DTX401 y el AAV natural, ambos virus intrínsecamente no patógenos. El riesgo de que esto ocurra es insignificante.
- Riesgo mínimo de transmisión por diseminación del virus: se ha comprobado que el ADN del vector de AAV se disemina por la saliva, orina y heces de primates no humanos después de su administración sistémica. No obstante, dado que DTX401 carece de capacidad de replicación, las partículas víricas diseminadas no pueden multiplicarse y, por consiguiente, su dispersión se encuentra limitada de manera

inherente. Además, los posibles riesgos de la exposición a DTX401 para los seres humanos se basan en la administración sistémica de DTX401. Una exposición mínima, como la exposición ambiental, de personas distintas de los sujetos que reciban DTX401 como parte del estudio no sería una dosis suficiente para representar una expresión génica significativa ni problemas de seguridad para los seres humanos. Cabe esperar que la carga viral en orina y heces sea baja. Aparte de los posibles huéspedes humanos, no se espera que la exposición a DTX401 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta. Así pues, el riesgo para los seres humanos y el medio ambiente asociado a la diseminación vírica de DTX401 es bajo o insignificante.

DTX401 se está administrando en una dosis de $1,0 \times 10^{13}$ CG/kg mediante inyección intravenosa única en el ensayo clínico 401GSDIA01. La diseminación del vector después de la infusión de DTX401 se está investigando en distintos momentos durante este estudio. Se obtienen muestras de saliva, orina y heces en el momento basal y en los días 4, 12, 20, 28, 36, 42, 48, 56, 64, 72 y 80 y en las semanas 12, 24, 36 y 52 después de la infusión. Se evaluaron muestras de 9 pacientes de este estudio en curso para determinar el perfil de diseminación del vector. Se diseminó ADN del vector en la saliva, la orina y las heces después de la infusión de DTX401, detectándose concentraciones mucho mayores de ADN del vector en las heces que en la saliva o la orina, en general. La concentración de ADN del vector en la saliva alcanzó su valor máximo entre los días 3 y 8 después de la infusión y disminuyó hasta valores indetectables el día 34. En la orina, la concentración de ADN del vector alcanzó su valor máximo entre los días 3 y 8 después de la infusión y disminuyó hasta valores indetectables el día 70. En las heces, la concentración de ADN del vector alcanzó su valor máximo entre los días 4 y 13 después de la infusión y disminuyó hasta niveles indetectables 3 meses después de la infusión. Además, en España, se está midiendo la diseminación del vector en el semen de los sujetos varones en las semanas 12 y 24 tras la administración de DTX401. Si los resultados de la semana 24 indican la presencia continuada de diseminación del vector, se obtendrán muestras en la semana 36 y la semana 52 o hasta que se obtenga al menos un resultado negativo.

- Riesgo mínimo de mutagénesis por inserción: El riesgo de mutagénesis por inserción se considera bajo o insignificante, ya que la inmensa mayoría del ADN del vector de AAVr persiste en forma de episoma ($\geq 99,5\%$) en lugar de como ADN integrado.
- Expresión del transgén específica del hígado: el AAV de serotipo 8, como AAV de clado E, muestra un tropismo intenso por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. DTX401 es un vector de AAV8 que encapsida el gen G6PC, cuya expresión está estimulada por el promotor/potenciador de la G6Pasa (GPE) humana, que tiene una actividad casi exclusiva en el hígado. Por tanto, se considera que la

expresión del transgén en células diferentes de los hepatocitos humanos es improbable.

- Expresión del transgén específica de tejido: DTX401 muestra un fuerte tropismo por el hígado tras su administración IV. La expresión del transgén de DTX401 es estimulada por un promotor específico del hígado. Como se observó en el estudio de toxicidad conforme a la BPL en ratones, la transducción de células no hepáticas da lugar a ausencia de expresión o a niveles bajos de expresión que disminuyen con el tiempo.
- Riesgo mínimo asociado al transgén: El gen G6PC codifica la G6Pasa (glucosa-6-fosfatasa) humana. En el OMG no se han introducido genes de toxinas, posibles oncogenes, factores de crecimiento ni otros genes que podrían ser potencialmente perjudiciales.
- Respuesta de linfocitos T: Respuesta mediada por los linfocitos T y aumento transitorio de las aminotransferasas hepática. El AA relacionado con el producto observado con más frecuencia en los estudios clínicos con transferencia génica mediada por AAV ha sido un aumento asintomático pasajero de las transaminasas hepáticas y una disminución simultánea de la expresión del transgén entre 7 y 10 semanas después de la administración del vector (Manno 2006, Nathwani 2011a, Nathwani 2014). En todos los casos, la elevación transitoria de las transaminasas hepáticas se resolvió sin secuelas clínicas. Se ha planteado la hipótesis de que esta hepatitis vírica inducida por el vector se debe a la activación de linfocitos T citotóxicos (LTC) específicos de la cápside y a una destrucción de hepatocitos transducidos (Mingozzi 2007). Sin embargo, en ratones, los linfocitos T activados contra la cápside del AAV no fueron capaces de dirigirse contra los hepatocitos transducidos y eliminarlos (Wang 2007, Li H 2007, Siders 2009) a menos que estuviese presente el genoma del AAV natural (Li H 2007). Con el fin de garantizar una estrecha vigilancia de las posibles elevaciones de las transaminasas hepáticas, se han incorporado medidas de seguridad adecuadas en el estudio. Se harán pruebas de función hepática como parte de la bioquímica clínica, lo que permitirá una detección rápida de cualquier elevación tras la administración de DTX401; se dispondrá en el centro de un plan de tratamiento para reducir al mínimo esta posible respuesta inmunitaria, en caso de que se produzca.

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"/>
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): Virus DNAss
ii) Género: Dependoparvovirus
iii) Especie: Virus Adenoasociado
iv) Subespecie: N/A
v) Cepa: Serotipo 8
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): N/A
vii) Nombre vulgar: N/A

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): En asociación con animales (gederos primates)

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: N/A

5. a) Técnicas de detección

El AAV puede detectarse mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) con cebadores específicos del genoma viral y PCR digital en gotitas (ddPCR) específica del gen.

5. b) Técnicas de identificación

El AAV puede identificarse mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR) con cebadores específicos del genoma viral y PCR digital en gotitas (ddPCR) específica del gen.

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:

Información complementaria: El AAV natural no es patógeno y no se ha clasificado conforme a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV carece de efectos patógenos conocidos, a pesar de que la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos frecuentes es del 90%. En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1 según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte 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.

El AAV natural no es patógeno y no se ha clasificado conforme a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV carece de efectos patógenos conocidos, a pesar de que la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos frecuentes es de hasta el 80% (Parlamento Europeo y Consejo 2000). En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del Grupo 1 de Riesgo según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre).

8. Información sobre reproducción

- a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.

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

El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.

- c) Modo de reproducción

Sexual N/A

Asexual N/A

- d) Factores que afectan a la reproducción:

La presencia de un virus auxiliar, como adenovirus o virus del herpes simple, favorece la expresión génica del AAV, la replicación del genoma y la producción de viriones. En ausencia de un virus colaborador, el AAV natural carece de capacidad de replicación. Hay que señalar que el OMG final, DTX401, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus colaborador debido a la eliminación de los genes víricos *rep* y *cap*.

9. Capacidad de supervivencia

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

- i) endosporas
- ii) quistes
- iii) esclerocios
- iv) esporas asexuales(hongos)
- v) esporas sexuales (hongos)
- vi) huevos

vii) pupas

viii) larvas

ix) otras (especifíquense):

El AAV no forma estructuras de supervivencia.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Los parvovirus, entre ellos el AAV, son virus estables que pueden persistir en el ambiente durante períodos prolongados (del orden de varias semanas). Las partículas de AAV son resistentes a un intervalo amplio de pH (pH 3-9) y soportan temperaturas elevadas (55 °C durante una hora). El AAV no forma estructuras de supervivencia. Sin embargo, al igual que todos los virus, no puede replicarse fuera de una célula huésped.

10. a) Vías de diseminación

El AAV puede transmitirse por contacto directo o indirecto. El AAV puede transmitirse por inhalación, ingestión y, posiblemente, transmisión sexual.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La replicación del virus solo es posible en células huésped que hayan sido coinfectadas por un virus colaborador (por ejemplo, adenovirus o virus del herpes simple). Hay que señalar que el OMG final, DTX401, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus colaborador debido a la eliminación de los genes víricos *rep* y *cap*.

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)

El promotor, Ultragenyx Pharmaceutical, Inc., ha notificado previamente DTX401, una modificación genética del virus parental (VAA8), para su liberación en España. El número de notificación es: B/ES/18/02.

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

i) Inserción de material genético

ii) Eliminación de material genético

iii) Sustitución de una base

iv) Fusión celular

v) Otro (especifíquese)

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética consiste en generar un vector de AAV recombinante que contenga un casete de expresión de G6PC humana para el tratamiento de los pacientes con glucogenosis de tipo (GGIa). DTX401 es un vector de AAV8 que encapsida el gen G6PC con expresión estimulada por GPE. VAA8, como VAA de clado E, muestra un fuerte tropismo por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. Así pues, cabe esperar que la administración de DTX401 dé lugar a la expresión del gen G6PC en el hígado de los sujetos del estudio.

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 (especifiquense):	
b) Identidad del vector: pDTX.hG6PCco.401	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Bacterias, Células de Mamíferos	
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: Kanamicina.

e) Fragmentos constituyentes del vector:

pDTX.hG6PCco.401 contiene el casete de expresión de G6PC. El casete de expresión consta de un promotor y un potenciador específicos del hígado, un transgén G6PC con optimización codónica y una señal de poliadenilación, flanqueada por repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV. Únicamente el casete de expresión de G6PC está presente en el OMG final. Además, el vector contiene un origen bacteriano de replicación y el gen que confiere resistencia a la kanamicina para permitir la propagación del plásmido en *E. coli*.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense):

Transfección triple de las células de acondicionamiento con pDTX.hG6PCco.401 y dos plásmidos colaboradores, lo que da lugar a la producción de partículas de AAV recombinantes.

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:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>El fragmento de inserción consta de un promotor y un potenciador específicos del hígado, un transgén G6PC con optimización codónica y una señal de poliadenilación, flanqueada por repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV.</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Promotor y potenciador específico del hígado: homo sapiens. • Gen G6PC: homo sapiens. • Señal de poliadenilación: SV40. • RTI: AAV.
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <ul style="list-style-type: none"> • Promotor y potenciador hepático específico: incorporados con la intención de estimular la expresión del gen G6PC específica del hígado. • Gen G6PC: Cabe esperar que la transferencia del gen de la G6PC resulte eficaz para tratar la GGIa, dado que dicha enfermedad está causada por mutaciones en este gen que afectan a la expresión o actividad de la enzima G6Pasa. • Señal de poliadenilación: incorporada con la intención de proporcionar secuencias cis para una poliadenilación eficiente del ARNm de la G6PC. Este elemento actúa a modo de señal para un fenómeno de escisión específico en el extremo 3' del transcrito incipiente y la adición de una cola larga de poliadenilo. <ul style="list-style-type: none"> • RTI: necesarias para la replicación y empaquetamiento del genoma del vector.
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <p>- en un plásmido libre <input type="checkbox"/></p> <p>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/></p> <p>- Otros especifíquense): Genoma de virus ADN monocatenario</p>
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>En caso afirmativo , especifíquese:</p>

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input 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): Primates
ii) Familia (plantas): N/A
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>Homo sapiens</i>
v) Subespecie: N/A
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	No	No se sabe
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<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"/>
--	-----------------------------	-------------------------------------

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		
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:

El genoma vírico DTX401 ha sido modificado de forma importante con respecto al virus parental para que carezca de capacidad de replicación. Los genes *rep* y *cap* del AAV se han sustituido por un casete de expresión eucariótico y únicamente se han mantenido las secuencias RTI virales, que son secuencias de ADN no codificadoras (< 300 pb). Por tanto, DTX401 no contiene genes víricos naturales.

El AAV natural requiere la presencia de un virus colaborador, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple, para replicarse. La replicación de DTX401 requeriría la presencia del AAV natural además de la de un virus colaborador. La probabilidad de que esto ocurra es extremadamente baja.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Dado que replicación de DTX401 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por tres virus distintos, la probabilidad de diseminación es menor que la del AAV natural.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

No se conocen efectos patógenos del AAV natural en seres humanos. No cabe esperar que la introducción del casete de expresión de G6PC conlleve la aparición de patogenicidad. Por tanto, ni el AAV natural ni DTX401 son patógenos ni se espera que lo sean.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus ADN monocatenario que muestra un alto grado de estabilidad genética; basándose en ello, también se espera que DTX401 sea genéticamente estable. La integridad del casete de expresión de G6PC se confirmará mediante secuenciación directa.

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo:

humanos

a) ¿Para cuál de los organismos animales siguientes?	<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

El AAV natural no es patógeno y no se ha clasificado conforme a la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. El AAV carece de efectos patógenos conocidos, a pesar de que la seroprevalencia estimada de algunos serotipos humanos frecuentes es de hasta el 80% (Parlamento Europeo y Consejo 2000). En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del Grupo 1 de Riesgo según la Directiva 2000/54/CE (agente biológico que resulte poco probable que cause enfermedad en el hombre).

Una gran cantidad de datos generados en los últimos 20 años en más de 2000 pacientes (clinicaltrials.gov) indica que los riesgos de seguridad asociados a la transferencia génica del AAV son insignificantes.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: DTX401 puede detectarse mediante qPCR y ddPCR.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: DTX401 puede detectarse mediante qPCR y ddPCR.

F. Información sobre la liberación

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

El estudio DTX401-CL301 es un estudio de fase 3, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo para determinar la eficacia y confirmar la seguridad de DTX401 en pacientes de 8 años o más con GG1a. Los objetivos principales del estudio son reducir o eliminar la dependencia del tratamiento sustitutivo exógeno para mantener la normoglucemia y mantener o mejorar la calidad del control de la glucosa
--

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?

<p>Sí <input type="checkbox"/></p>	<p>No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>El hábitat natural del AAV8 natural son células huésped de primates. DTX401 se administrará a seres humanos en el contexto del estudio clínico DTX401-CL301.</p>
<p>En caso afirmativo, especifíquese:</p>	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p style="margin-left: 40px;">Centro 1: Complejo Hospitalario Universitario de Santiago Travesía Choupana S/N 15706, Santiago de Compostela (A Coruña) Spain</p> <p style="margin-left: 40px;">Centro 2: Hospital Universitario 12 de Octubre Avda. Córdoba s/n 28041 Madrid Spain</p>	
<p>b) Área del lugar (m²):</p> <p style="margin-left: 40px;">i) lugar real de la liberación (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque DTX401 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.</p> <p style="margin-left: 40px;">ii) área de liberación más amplia (m²): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque DTX401 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.</p>	
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados: No procede. DTX401 se administrará en una infusión IV en un entorno hospitalario. Por tanto, no cabe prever que entre en contacto con biotipos reconocidos ni zonas protegidas.</p>	
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p>	

La administración de DTX401 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: La dosis se basará en el peso corporal del paciente. Se calcula que podrá administrarse una cantidad total aproximada de $1,0 \times 10^{13}$ copias de genoma/kg de DTX401 a los pacientes de España.

b. Duración de la operación:

La duración prevista del estudio para cada sujeto es de aproximadamente 104 semanas, incluido un período de selección de hasta 8 semanas, un período de análisis principal de la eficacia (PAPE) de 48 semanas y un período de seguimiento de 48 semanas.

Una vez finalizado este estudio (semana 96 o retirada prematura), se espera que todos los sujetos que hayan recibido DTX401 se incorporen a un estudio de seguimiento a largo plazo para evaluar la seguridad y la eficacia de DTX401 mediante el programa de monitorización de la enfermedad (PME) durante al menos 10 años después de la administración de DTX401.

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

DTX401 se enviará a los centros del estudio siguiendo las recomendaciones habituales para el transporte de materiales biológicos peligrosos. DTX401 será conservado, preparado y administrado por profesionales médicos cualificados, en un entorno hospitalario y únicamente a pacientes que cumplan los criterios de inclusión en el estudio clínico DTX401-CL301. El personal seguirá las normas en materia de residuos y eliminación de conformidad con las disposiciones de cada centro para eliminar los consumibles utilizados en la preparación y administración del OMG. Cuando así se permita, los viales usados y sin usar de DTX401 se conservarán en el centro del estudio hasta que el adjunto de investigación clínica (CRA) proceda a la contabilidad de la medicación del estudio. En caso de que no se permita la destrucción en el centro, los viales sin usar se devolverán al centro de fabricación que haya distribuido el producto de acuerdo con los requisitos habituales en relación con el PEI y según se indica en el manual de farmacia.

DTX401 es un producto en investigación (PEI) fabricado y liberado por una persona cualificada (PC) de un estado miembro de la Unión Europea, para uso en ensayos clínicos, tras haber cumplido las especificaciones definidas en cuanto a calidad y seguridad del producto para administración a seres humanos de acuerdo con el protocolo del estudio clínico. Además, se utiliza y está aprobado de conformidad con el protocolo del estudio clínico por las autoridades sanitarias y comités de ética del país en el que vaya a realizarse el estudio.

Por este motivo, la cadena de suministro del PEI y su gestión en el centro están reguladas en el contexto de las normativas sobre ensayos clínicos, las leyes locales y las directrices aplicables en cuanto a recepción, conservación, manipulación, dispensación, contabilidad y devolución del PEI. En el manual de farmacia del estudio y el material de formación facilitado a los centros se proporcionan instrucciones sobre el uso, conservación y destrucción del PEI al personal de farmacia y clínico. También se incluyen instrucciones para documentar el control del PEI desde el momento de su recepción en el centro del ensayo hasta el recuento final y su destrucción o devolución. Además, se describen los procesos necesarios para gestionar y documentar posibles problemas, como desviaciones de la temperatura durante el transporte o la conservación, y para la notificación de reclamaciones técnicas por el producto.

Los riesgos relacionados con la liberación al medio ambiente del OMG y los riesgos para el personal, en caso de que se produzca una alteración de la integridad del envase o la conservación o un vertido accidental en el centro o durante el transporte o conservación, se consideran insignificantes. El OMG será manipulado exclusivamente por el personal cualificado designado y, en caso de que se produzca un vertido, el producto no es patógeno y carece de capacidad de replicación, lo que limita la dispersión y los riesgos para el medio ambiente o el personal.

Los vectores de AAV recombinantes carecen de capacidad de replicación y no cabe esperar que supongan un riesgo de transmisión. Además, el riesgo de transmisión vertical del vector AAV es bajo y un estudio preclínico reciente demostró la ausencia de transmisión en la línea germinal con un producto de terapia génica Ultragenyx con un vector AAV8 similar a DTX401. Sin embargo, a fin de evitar una posible exposición de parejas sexuales, las mujeres en edad fértil y los varones que mantengan relaciones sexuales con parejas en edad fértil en el estudio clínico DTX401-CL301 tendrán que utilizar un método anticonceptivo eficaz durante todo el estudio de 96 semanas y, en caso de retirada prematura, durante al menos 48 semanas después de la última dosis de DTX401.

Los pacientes recibirán DTX401 en forma de infusión IV periférica en un entorno clínico y serán dados de alta tras la administración a criterio del investigador una vez finalizadas todas las evaluaciones del protocolo posteriores a la infusión del PEI y el investigador determine que el sujeto está clínicamente estable y seguro para ser dado de alta, lo que limita la probabilidad de exposición de familiares.

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

No procede. La administración de DTX401 se realizará exclusivamente en un entorno clínico controlado.

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

N/A

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

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

DTX401 codifica el gen G6PC cuya expresión se ve estimulada por un GPE específico del hígado encapsidado en un vector de AAV8. VAA8, como VAA del clado E, muestra un fuerte tropismo por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. Así pues, cabe esperar que la administración de DTX401 dé lugar a la expresión del gen de la G6PC en el hígado de los sujetos del estudio. Cabe esperar que la transferencia del gen de la G6PC resulte eficaz para tratar la GG1a, dado que dicha enfermedad está causada por mutaciones en este gen que afectan a la expresión de G6Pasa.

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

No se expondrá a personas distintas de los sujetos tratados con el medicamento a concentraciones de DTX401 que puedan representar un posible riesgo. Los posibles riesgos de exposición a DTX401 están basados en la administración sistémica de DTX401. Una exposición mínima, como la exposición ambiental, de organismos distintos de los sujetos que reciban DTX401 como parte del estudio no constituiría una dosis suficiente para representar una expresión génica significativa ni posibles riesgos de seguridad para los seres humanos. Dado que DTX401 también carece de capacidad de replicación, cabe esperar una eliminación rápida del vector de cualquier organismo que no sea objeto de la investigación sin causar ningún efecto perjudicial. Además, la expresión del transgén se ha diseñado para que tenga lugar exclusivamente en los hepatocitos. Aparte de los posibles huéspedes humanos, no

cabe esperar que la exposición a DTX401 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta.

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: Dado que DTX401 es incapaz de replicarse, no puede producirse selección posterior a la liberación.		

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

Dado que DTX401 es incapaz de replicarse, no cabe esperar que se disemine al medio ambiente en un grado significativo ni que se establezca en ningún ecosistema.

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

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Cabe esperar que el genoma vírico DTX401 se transfiera a los hepatocitos presentes en el hígado de los pacientes incluidos en el estudio 401GSDIA01. Cabe prever que la inmensa mayoría de los genomas del vector DTX401 presentes en el interior de las células de los sujetos sean episómicos, en lugar de quedar integrados en el ADN de las células huésped. Dado que DTX401 carece de capacidad de replicación, y únicamente cabe prever que se disemine a los líquidos corporales de los sujetos del estudio en un grado limitado, se considera improbable la transmisión y transferencia génica a organismos distintos de los sujetos del estudio.

b) De otros organismos al OMG: La eliminación del 94% del ADN vírico disminuye la probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podría dar lugar a variantes del OMG.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Aunque la recombinación entre DTX401 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga el casete de expresión de G6PC y los genes *rep* y *cap* de AAV sigue siendo una posibilidad teórica, una molécula de este tipo, aunque se generara en una célula, no podría replicarse a menos que también hubiera presencia de un adenovirus o virus herpes colaborador. Por otro lado, este genoma híbrido sería demasiado grande para empaquetar el ADN híbrido en una partícula de AAV. Se sabe que el AAV posee un límite de acondicionamiento de unas 5 kb (Wu 2010) y sería previsible que una molécula híbrida que contuviera los genes *rep-cap* más el casete de expresión de G6PC superara este límite. Por tal motivo, los riesgos asociados a la transferencia génica del AAV natural a DTX401 se consideran insignificantes.

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 de este tipo con DTX401.

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

No se conoce ni cabe prever que DTX401 pueda influir en procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Los métodos para controlar los efectos de DTX401 consisten en evaluaciones de la seguridad y eficacia.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

La presencia de DTX401 en líquidos corporales tras la administración de DTX401 se determinará mediante PCRc.

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

La transferencia del casete de expresión de G6PC a los sujetos del estudio se detectará evaluando la actividad de la G6Pasa, para lo cual se utilizarán interpretaciones clínicas adecuadas.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

N/A

5. Duración del seguimiento

Se realizarán evaluaciones de la seguridad y eficacia durante todo el estudio según se describe en el protocolo del estudio.

6. Frecuencia del seguimiento

Se realizarán evaluaciones de la seguridad y eficacia durante todo el estudio según se describe en el protocolo del estudio.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todas las superficies contaminadas con DTX401 se desinfectarán de acuerdo con las normas locales y los procedimientos del centro relacionados con el tratamiento de sustancias biológicas peligrosas y utilizando un desinfectante eficaz contra AAV (por ejemplo, hipoclorito sódico al 1%, glutaraldehído al 2% o dodecilsulfato sódico al 0,25%).

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los materiales desechables que entren en contacto con el producto en investigación deberán desecharse de conformidad con las prácticas y normas de cada centro en materia de eliminación y descontaminación de residuos biológicos peligrosos. En general, los materiales desechables se desecharán en recipientes para objetos punzantes o bolsas para materiales biológicos

peligrosos y se descontaminarán mediante autoclave, incineración o ambos. El material no desechable se descontaminará con arreglo a las prácticas y procedimientos del centro, por ejemplo, mediante tratamiento con un desinfectante adecuado o con autoclave.

Cuando así se permita, los viales usados y sin usar de DTX401 se conservarán en el centro del estudio hasta que el CRA proceda a la contabilidad de la medicación del estudio. En caso de que no se permita la destrucción en el centro, los viales sin usar se devolverán al centro de fabricación que haya distribuido el producto de acuerdo con los requisitos habituales en relación con el PEI y según se indica en el manual de farmacia.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Se prevén los siguientes tipos de residuos:

- Viales de vidrio que contienen DTX401. El número de viales de DTX401 necesarios por paciente dependerá de la cohorte de dosis y del peso corporal del paciente.
- Materiales utilizados en la preparación y administración del fármaco del estudio, por ejemplo, bolsa de solución salina, sistema de administración IV, jeringas y agujas.
- Equipo de protección personal, por ejemplo, guantes.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los materiales desechables que entren en contacto con el medicamento en investigación deberán desecharse de conformidad con las prácticas y normas de cada centro. Por ejemplo, estos materiales se desecharán en recipientes para objetos punzantes o bolsas para materiales biológicos peligrosos y se descontaminarán mediante autoclave, incineración o lo uno y lo otro. Los residuos líquidos se descontaminarán y desecharán con arreglo a las prácticas del centro.

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 que se libere accidentalmente el contenido de un vial de DTX401 o producto para infusión diluido y que entre en contacto con materiales de transporte o superficies de la farmacia u hospital, el vertido deberá descontaminarse y eliminarse de acuerdo con las prácticas del centro.

DTX401 se conserva en viales de vidrio. Se advertirá al personal de que tenga precaución al manipular los viales y de que reduzca al mínimo el uso de agujas. En caso de lesión, el personal seguirá los procedimientos de cada centro.

En caso de contacto accidental de DTX401 con la piel, los ojos o la ropa, el personal seguirá los procedimientos del centro en cuanto al tratamiento de materiales biológicos peligrosos.

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

Toda superficie expuesta al OMG se desinfectará con un desinfectante adecuado de conformidad con las leyes locales y las políticas y procedimientos del centro.

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

La administración de DTX401 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo. Además, DTX401 no es capaz de infectar a plantas ni microbios.

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

El personal respetará la legislación local y los procedimientos del centro en materia de manipulación y eliminación de organismos modificados genéticamente. Además, se facilitan recomendaciones de seguridad y orientación sobre el tratamiento de los incidentes relacionados con DTX401 en las instrucciones de seguridad para los investigadores y el personal adjuntas. Se vigilará estrechamente a todos los pacientes para detectar las reacciones adversas que puedan producirse durante este estudio. Un comité de vigilancia de los datos (CVD) independiente se encargará de controlar los datos de seguridad de este estudio. El CVD podrá recomendar, en cualquier momento, que se modifique o interrumpa el estudio prematuramente por problemas de seguridad basándose en los análisis de los datos.