

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/21/25
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	13-Oct-2021
d) Título del proyecto:	Estudio de fase III multinacional, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de liberación génica sistémica para evaluar la seguridad y la eficacia de SRP-9001 en sujetos con distrofia muscular de Duchenne (EMBARK)
e) Período propuesto para la liberación:	Feb-2022 – Nov-2024

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Sarepta Therapeutics Inc.
-------------------------------------	---------------------------

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"/>

<p style="margin: 0;">- peces <input type="checkbox"/></p> <p style="margin: 0;">- otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase</p> <p>Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)</p>	
<p>b) Identidad del OMG (género y especie)</p> <p>Género: Dependoparvovirus</p> <p>Especie: Virus adenoasociado (VAA), serotipo rh74 (vector vírico incapaz de replicarse que contiene ADNc hMicro-Dys humano)</p>	
<p>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 SRP-9001 sea equivalente al VAA de tipo silvestre. También se sabe que el ADN del VAA de tipo silvestre, así como el de los vectores basados en VAA, persiste en células transducidas como concatémeros episómicos circulares (extracromosómicos) en tejidos humanos (Chen, 2005, Penaud-Budloo, 2018 y Schnepf, 2005). Sin embargo, debido a la falta de genes Rep y Cap víricos, se espera que SRP-9001 permanezca en las células como episomas y no se replicará y producirá partículas víricas. El casete de expresión se transcribirá y traducirá por las enzimas de la célula huésped, lo que ocasionará la expresión de microdistrofina. La estabilidad de SRP-9001 se considera comparable a la del VAA de tipo silvestre.</p> <p>Existe la posibilidad de una recombinación genómica homóloga espontánea en la naturaleza entre los genomas víricos de las cepas de VAA si el organismo huésped resulta infectado simultáneamente por dos cepas diferentes de VAA y un virus auxiliar.</p>	

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: BE, DE, FR, GB, IT	

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: FR - Número de la notificación: ref TG 8010 	

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Estado miembro de la notificación: Estados Unidos - Número de la notificación: IND 017763 	

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

SRP-9001 es un vector VAA no replicante que contiene el gen de la microdistrofina para el tratamiento de pacientes con Distrofia Muscular de Duchenne. No se espera que SPR-9001 tenga un impacto medioambiental.

Patología

Los virus adenoasociados (VAA) son virus de ADN monocatenario que no se ha hallado que provoquen patología en seres humanos.

Productividad de sustancias nocivas

El virus recombinante expresa la proteína microdistrofina y no produce ninguna sustancia nociva. No se han insertado genes para oncogenes, toxinas o genes potencialmente dañinos en el OMG.

Propiedad de transmisión horizontal de ácido nucleico

Se ha demostrado que el VAA modificado genéticamente utilizado para administrar SRP-9001 dispersa una proporción muy pequeña del número total de genomas víricos inyectados en la población de pacientes en una matriz de fluidos (sangre completa, suero, orina, saliva), y se considera que su capacidad de transferir ácido nucleico horizontalmente está considerablemente reducida en comparación con el VAA de tipo salvaje, que es la especie taxonómica a la que pertenece el organismo modificado. Además, no se esperan exposiciones a organismos no diana o exposiciones ambientales.

Como resultado, no cabría esperar la transferencia horizontal de ADN desde SRP-9001.

Replicación incompetente y mutagénesis insercional

Los vectores recombinantes VAA (VAAr) no contienen secuencias de codificación vírica y no expresan proteína Rep que desempeñan un papel fundamental, no solo para la replicación del ADN, sino también para la integración sitio-específica y los efectos inhibidores del crecimiento celular. Los productos recombinantes para genoterapia humana se utilizan para suministrar (y, en última instancia, expresar) un «transgén» terapéutico en células somáticas con el fin de tratar enfermedades genéticas hereditarias. Las células somáticas contribuyen a los diversos tejidos del organismo, pero no a la estirpe germinal. Los efectos de los cambios realizados en las células somáticas se limitan a la persona tratada y no los heredarían las generaciones futuras

La tumorigenicidad por mutagénesis de inserción es una preocupación teórica para cualquier vector de terapia génica. En general, se plantea la hipótesis de que las secuencias de RTI virales pueden tener una estructura con potencial de recombinación incluso en ausencia de proteínas Rep. Aunque la integración de secuencias de vectores en el genoma celular parece ocurrir preferentemente en regiones transcripcionalmente activas en ratones, no se ha observado formación de tumores después de la terapia mediada por VAAr en PNH (primate no humano), perros, ratas o en cualquier paciente en ensayos clínicos hasta la fecha, incluso después de seguimiento a largo plazo (Colella, 2018).

Inmunogenicidad

El producto transgénico y la cápside del virus son las únicas fuentes de antígeno exógeno que se cree que tienen la posibilidad de inducir una respuesta inmunitaria. Además, la inmunidad preexistente al VAA en una gran proporción de la población humana podría complicar el uso de vectores de VAAr derivados de serotipos aislados de muestras humanas. Se controlará la respuesta inmunitaria de los pacientes y se les tratará profilácticamente con corticosteroides durante las primeras semanas a meses posteriores a la transferencia genética.

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): Parvoviridae
ii) Género: Dependovirus
iii) Especie: Virus adenoasociado
iv) Subespecie: N/D
v) Cepa: N/D
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): Serotipo rh74
vii) Nombre vulgar: VAA rh74

3. Distribución geográfica del organismo

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:		
i) Sí <input checked="" type="checkbox"/>		
En caso afirmativo, indíquese el tipo de ecosistema en que se encuentra:		
Atlántico	<input checked="" type="checkbox"/>	
Mediterráneo	<input checked="" type="checkbox"/>	
Boreal	<input checked="" type="checkbox"/>	
Alpino	<input checked="" type="checkbox"/>	
Continental	<input checked="" type="checkbox"/>	
Macaronésico	<input checked="" type="checkbox"/>	
ii) No <input type="checkbox"/>		
iii) No se sabe <input type="checkbox"/>		
c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	
d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>
Otros, (especifíquense): El VAA rh74 se ha aislado de primates no humanos (Macaca mulatta), aunque otros animales o los seres humanos pueden ser huéspedes	

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

5. a) Técnicas de detección

Pruebas serológicas

5. b) Técnicas de identificación

Anticuerpos específicos por serotipo y secuenciación de ADN.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

El VAA de tipo silvestre no está clasificado en los grupos de riesgo 2, 3 o 4 en la Unión Europea (UE) de conformidad con la Directiva 2000/54/CE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (Anexo III). Se designa de forma más adecuada como un agente biológico del grupo de riesgo 1, definido en la UE como «un 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.

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

La replicación del VAA rh74 recombinante en una célula huésped infectada depende de la coinfección por un virus auxiliar como un adenovirus. El tiempo de generación del VAA de tipo silvestre en un ecosistema natural será significativamente muy alto, en función del momento de la coinfección.

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

c) Modo de reproducción Sexual Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

Es necesaria una infección triple antes de que se produzca una infección horizontal en pacientes tratados con SRP-9001 y la posibilidad es muy baja. Además, incluso cuando se forma virus competentes en replicación (VAAcr), es necesaria la coinfección por un virus auxiliar para la infección horizontal, por lo que, teniendo en cuenta la tasa de formación de VAAcr, la posibilidad de infección horizontal es muy baja. Aunque se sabe que el VAA de tipo silvestre se inserta en el genoma celular infectado con baja probabilidad, como SRP-9001 carece del gen rep/cap, no tiene capacidad de proliferación. Además, incluso cuando se produce una infección horizontal, es muy poco probable que el ácido nucleico hMicro-Dys derivado de SRP-9001 se incorpore al genoma celular infectado.

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)

Los VAA de tipo silvestre permanecen episómicos durante largos períodos por la concatemerización del genoma.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

Las partículas de VAA son estables fuera de los organismos huésped durante varias semanas en condiciones ambientales normales en un amplio intervalo de pH y temperatura. Debido a la alta estabilidad de la cápside, el VAA puede seguir siendo infeccioso por lo menos durante un mes a temperatura ambiente (Tenenbaum, 2003). Para garantizar la seguridad se deben emplear procedimientos adecuados de descontaminación como lejía al 10 %, detergentes iónicos o soluciones alcalinas (pH >9,5) (Howard, 2017).

10. a) Vías de diseminación

Los VAA de tipo silvestre se transmiten posiblemente por ingestión, inhalación de aerosoles o gotículas, contacto con mucosas, líquidos corporales y materia fecal.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Para la infección se necesita una coinfección por un virus auxiliar.

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

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

Después de la administración de SRP-9001, el vector se transloca al núcleo y se convierte en ADN bicatenario y existe independientemente del cromosoma. La persistencia de la expresión génica es muy alta en las células no mitóticas. El objetivo del tratamiento con SRP-9001 es aumentar el nivel de expresión de la proteína microdistrofina en el músculo esquelético y cardíaco para aumentar su resistencia y protegerlos de lesiones inducidas por la contracción. En los estudios clínicos realizados para evaluar la seguridad y la eficacia de SRP-9001, este parece mostrar un perfil de seguridad favorable y ser generalmente bien tolerado.

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 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: En la fabricación de SRP-9001 intervienen tres vectores, el plásmido del vector VAA; el gen de interés; pAAV.MHCK7.Micro-Dystrophin, el plásmido auxiliar VAA; pNLREP2-Caprh74 y el plásmido auxiliar de Ad. Los vectores construidos contienen secuencias humanas	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Células (bacterianas) de E. coli.	
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:

Los genes de resistencia a los antibióticos solo están presentes en el plásmido. El vector vírico SRP-9001 no contiene ningún gen de resistencia a los antibióticos.

e) Fragmentos constituyentes del vector

El vector SRP-9001 se produce por un proceso denominado «triple transfección», que utiliza 3 construcciones diferentes de ADN plasmídico.

1. Plásmido vector de VAA; gen de interés: pAAV.MHCK7.Micro-Dystrophin; plásmido vector que codifica una proteína microdistrofina humana de 137 kDa y elementos reguladores flanqueados por repeticiones terminales invertidas (RTI) derivadas de VAA2.
2. Plásmido auxiliar de VAA; pNLREP2-Caprh74; plásmido de encapsidación que contiene el gen rep del VAA para codificar proteínas no estructurales y el gen cap para codificar proteínas estructurales.
3. Plásmido auxiliar de Ad; pHELP; plásmido auxiliar de adenovirus que codifica los ARN de los genes de tipo 2 E2A, E4 y VA necesarios para la replicación de VAA en células HEK 293.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

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

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

<p>a) Composición del fragmento de inserción:</p> <p>El genoma del vector VAAr (virus adenoasociado recombinante) empaquetado comprende el promotor MHCK7, el transgén de microdistirofina y una señal de poliadenilación; flanqueado por repeticiones terminales invertidas (RTI) de VAA</p>
<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>Promotor MHCK7: Mus musculus, modificado y sintetizado químicamente. Transgén de microdistirofina: Homo sapiens, con optimización codónica y sintetizado químicamente. Señal de poliadenilación: polyA sintético. Repeticiones terminales invertidas (RTI) de VAA: VAA2 de tipo salvaje</p>
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>Promotor MHCK7: promover su expresión en el músculo cardíaco y esquelético. Transgén de microdistirofina: Codifica las partes del gen de microdistirofina, que son críticas para la función muscular. Señal de poliadenilación (PolyA): especifica la finalización de la transcripción y también es importante para estabilidad del mRNA y la exportación nuclear. Repeticiones terminales invertidas (RTI) de VAA: funciona como origen de la replicación del ADN del vector y como señal de encapsidación del genoma del vector, cuando se presentan en <i>trans</i> los genes auxiliares de adenovirus y los genes Rep y Cap del VAA.</p>
<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):</p> <p>Se proporciona la estructura del transgén (hMicro-Dys) que incluye las RTI. El vector se localiza en forma de concatémeros episómicos como cuerpos extracromosómicos.</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): N/D
ii) Familia (plantas): N/D
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>sapiens</i>
v) Subespecie: N/D
vi) Cepa: N/D
vii) Cultivar/línea de reproducción: N/D
viii) Patovar: N/D
ix) Nombre vulgar: Ser humano

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

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

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

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

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

No procede

Sí <input 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"/>

<p>Especifíquese</p> <p>Dado que la partícula de la cápside de SRP-9001 es similar a la del VAA rh74 de tipo silvestre, las características de supervivencia ex vivo son idénticas tanto para el serotipo recombinante como para el virus de tipo silvestre.</p>
<p>b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>Debido a la eliminación de los genes rep y cap, SRP-9001 es incapaz de replicarse incluso en presencia de tipo silvestre.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>Las proteínas de la cápside vírica tienen la misma diseminación/tropismo que el virus VAA rh74 progenitor. Sin embargo, dado que SRP-9001 es incapaz de replicarse, la diseminación se limita a la administración de SRP-9001 al paciente</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese:</p> <p>Ni el VAA rh74 de tipo silvestre ni SRP-9001 son patógenos para los seres humanos y los animales en el medio ambiente. Debido a que SRP-9001 es incapaz de replicarse, no puede iniciar un ciclo infeccioso ni siquiera en presencia de funciones auxiliares.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

<p>La estabilidad de SRP-9001 se confirma caracterizando su identidad, pureza y calidad. La administración de SRP-9001 a sujetos con DMD (Distrofia Muscular de Duchenne) infecta las células diana formando múltiples genomas de SRP-9001 que se ensamblan para formar concatémeros de ADN bicatenario más grandes. Sin embargo, no se forman nuevas partículas víricas en los sujetos. Estos concatémeros persisten en la célula como estructuras episómicas estables y tienen actividad transcripcional. Sobre la base de la estabilidad genética conocida del VAA de tipo silvestre y la ausencia de un mecanismo intrínseco para la variación genética o la inestabilidad, se espera que los rasgos genéticos de SRP-9001 sean estables.</p>

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 humanos siguientes?		<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

Letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II del anexo III A. Los VAA recombinantes para ensayos clínicos de genoterapia no se incorporan al genoma, sino que forman concatémeros episómicos en el núcleo de la célula huésped (Kimura, et al., 2019). Los datos preclínicos también indican que los vectores de VAA persisten predominantemente como elementos extracromosómicos (episomas) en lugar de integrarse en los genomas de las células huésped (McCarty, et al., 2004). Sobre la base de los datos clínicos y preclínicos disponibles, se concluye que SRP-9001 no se integra en el genoma de la célula huésped. Sin embargo, aún no se han estudiado las consecuencias a largo plazo de la administración de vectores víricos de VAA a los seres humanos. Dado que el producto SRP-9001 utiliza VAA rh74 con todo el ADN de tipo silvestre eliminado, excepto las repeticiones terminales invertidas, se cree que el riesgo potencial de incorporación de SRP-9001 al ADN cromosómico del paciente es muy reducido.

El vector recombinante SRP-9001 que contiene el gen de la Distrofia Muscular de Duchenne podría interactuar con otros virus con los que los pacientes entran en contacto y provocar viremia. Este supuesto improbable se ha estudiado (Favre et al., 2001) en cultivo celular. Sin embargo, los experimentos de rescate in vivo no han demostrado rescate y replicación, excepto en un caso en el que se administraron dosis muy altas de VAA de tipo silvestre y adenovirus en un entorno concreto (Afione et al., 1996). Por lo tanto, la interacción del VAA rh74 con otros virus para provocar infección parece ser un riesgo insignificante de SRP-9001.

Inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A: En general, se observa excreción de virus en un período corto después de la administración de SRP-9001 no replicativo, con una exposición muy limitada al medio ambiente. Por lo tanto, no se espera la exposición de plantas o animales. SRP-9001 no es patógeno y la proteína de la distrofina humana no ha demostrado tener efectos tóxicos. No se han comunicado efectos secundarios para el medio ambiente ni para la salud humana después de la liberación de OMG similares (virus adenoasociados de los serotipos 2 y 9).

En el análisis de excreción vírica de SRP-9001 se hallaron niveles máximos el día 2 tanto en ratones C57BL/6J como DMD^{MDX} en ambos niveles de dosis; 1.33×10^{14} vg/kg and 4.01×10^{14} vg/kg.. Los niveles de SRP-9001 descendieron progresivamente en consonancia con el tiempo desde la administración. El vector se elimina principalmente del cuerpo en orina, heces y plasma, estando por debajo del límite de cuantificación el día 44 después de la infusión

. En este momento no se conocen los riesgos asociados al vector excretado; sin embargo, son poco probables, ya que el vector no es infeccioso y no se puede replicar. No obstante, se deben proporcionar instrucciones a las familias de los pacientes y a los cuidadores con respecto al uso de guantes protectores si / cuando entran en contacto directo con los fluidos corporales del paciente y / o los desechos, así como una buena higiene de las manos durante algunas semanas después de la inyección.

. Además, se prohíbe a los pacientes donar sangre durante dos años después de la inyección del vector. Véanse también los resultados del estudio de excreción y biodistribución de virus descritos en la sección A de información general, en respuesta a la pregunta 7.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

El vector recombinante de microdistrofina (SRP-9001) se detecta mediante un ensayo de qPCR/ddPCR utilizando cebadores y una sonda específica para el promotor MHCK7.

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

El vector recombinante de microdistrofina (SRP-9001) se identifica mediante un ensayo de qPCR/ddPCR utilizando cebadores y una sonda específica para el promotor MHCK7.

F. Información sobre la liberación

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

Para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. No se espera ningún beneficio potencial para el medio ambiente.

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: SRP-9001 se administra por vía intravenosa a los pacientes con distrofia muscular de Duchenne.

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): Hospital Universitario La Fe – Valencia y Hospital Sant Joan de Deu - Barcelona

b) Área del lugar (m²): **No procede**

i) lugar real de la liberación (m²):

ii) área de liberación más amplia (m²):

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

No procede considerando que el material excretado, si lo hay, 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:

SRP-9001 se administrará a los pacientes con una dosis única a $1,33 \times 10^{14}$ gv/kg para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. Se inscribirá a unos 200 pacientes en todo el mundo para estudios clínicos fundamentales. La cantidad que se liberará al medio ambiente por excreción serán una proporción muy pequeña del número total de genomas víricos. SRP-9001 se puede detectar mediante qPCR/ddPCR en las muestras de excreción desde el día 1 posterior a la inyección.

b. Duración de la operación:

Se espera que el procedimiento de administración, lo que comprende la preparación del sistema de infusión, dure unas 2 horas.

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

Los profesionales sanitarios y el personal del centro recibirán capacitación en las mejores prácticas de bioseguridad que se deberán aplicar durante la preparación de SRP-9001 en la farmacia, su transporte a la sala de administración, las precauciones durante la administración y la eliminación de los desechos biológicos en contacto con el producto y el medicamento sobrante.

La capacitación también incluye el uso de ropa protectora adaptada, guantes y gafas protectoras, la presencia constante de un kit de vertidos y la descontaminación de los desechos antes de su eliminación.

El equipo de protección individual (EPI) utilizado para el procedimiento incluye:

- Guantes (valore la posibilidad de usar guantes dobles)
- Gafas de seguridad
- Bata de aislamiento desechable.
- También se debe utilizar el EPI adecuado para los antebrazos, como manguitos o sujeción de los guantes sobre las mangas de la bata de laboratorio.
- El personal con llagas abiertas o cortes en la piel no debe trabajar con VAA.

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

SRP-9001 se administrará a los pacientes con una dosis única a $1,33 \times 10^{14}$ gv/kg para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. Se inscribirá a unos 200 pacientes en todo el mundo para estudios clínicos fundamentales.

Los viales de SRP-9001 se enviarán congelados y se conservarán a ≤ -60 °C antes de la administración. Los viales se descongelan en la farmacia del hospital con ambiente controlado y se conservan a temperatura ambiente (20-25 °C) hasta que se administra el fármaco al paciente.

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

La administración de SRP-9001 aumenta la expresión de la distrofina in vivo y puede mejorar la función muscular del sujeto y, lo que es más importante, puede conservar el diafragma y el músculo cardíaco. Estas mejoras aumentarían la calidad de vida del paciente y podrían prolongar la supervivencia según los estudios de fase 1 y fase 2 en EE. UU.

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

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

La distrofia muscular de Duchenne afecta a todos los músculos esqueléticos del organismo, además de al diafragma y al corazón. Como tal, es necesario un abordaje sistémico para ofrecer la mejor perspectiva posible de beneficio directo para los pacientes. Utilizar el serotipo VAAr rh74 permite una transducción eficaz de músculo cardíaco, esquelético y diafragmático.

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

Ninguna

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 SRP-9001 es incapaz de replicarse, no se espera un aumento de la competitividad ni de la invasividad.

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

Los resultados de varios ensayos clínicos previos indican que la exposición

inadvertida a vectores AAV recombinante incompetentes para la replicación (es decir, SRP-9001) no da lugar a una enfermedad significativa; además, debido a que es incompetente para la replicación, el SRP-9001 no podría establecerse 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

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: No existe ningún efecto ni peligro para la biodiversidad en la diseminación del material genético por transferencia horizontal. Incluso si se produjera transferencia horizontal de genes, las secuencias no conferirían una ventaja selectiva a otros organismos como las bacterias, ya que SRP-9001 no contiene ningún promotor procariótico, genes de resistencia ni ningún gen que pudiera favorecer su crecimiento. Por lo tanto, es poco probable que SRP-9001 influya en la dinámica natural de las poblaciones microbianas o en los ciclos biogeoquímicos en el medio ambiente.
b) De otros organismos al OMG: Dado que SRP-9001 contiene las secuencias RTI, existe una posibilidad muy baja de recombinación homóloga del vector con VAA de tipo silvestre en caso de coinfección en personas expuestas. El resultado de dicha recombinación sería que SRP-9001 obtendría los genes funcionales del VAA necesarios para la replicación y la encapsidación. Por lo tanto, la recombinación ocasionaría la formación de virus que son idénticos a la cepa recombinante que es incapaz de multiplicarse.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Expresión de la proteína microdistrofina humana (hMicro-Dys).

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

No hay referencias bibliográficas disponibles.

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

No se dispone de interacciones ambientales con procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

qPCR/ddPCR

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Ninguno

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

El riesgo de la transferencia de material genético de SRP-9001 a otros organismos es insignificante. Se puede utilizar qPCR/ddPCR para detectar el material genético.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede.

5. Duración del seguimiento

No aplica

6. Frecuencia del seguimiento

No aplica.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Tras la administración de SRP-9001 a los pacientes, la sala de intervención se desinfectará según el manual de la farmacia y las normas institucionales habituales.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Cualquier vial abierto o material no utilizado debe precintarse en recipientes a prueba de fu-gas. Los viales vacíos y los viales usados, así como los componentes del sistema de administración en contacto con el producto (cánula, agujas de inyección y jeringas), gasas, equipo de protección personal y los componentes utilizados para la toma de muestras de líquidos corporales después de la administración se desinfectarán o incinerarán de acuerdo con las normas de tratamiento de residuos con riesgo biológico de los centros hospitalarios.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Tras la administración de SRP-9001, se generan los siguientes residuos: viales vacíos, viales usados, tubo guía, cánula, agujas y jeringas de inyección, gasas,

guantes y componentes utilizados para tomar muestras de líquidos corporales.

3. (b) Tratamiento de residuos

Cualquier vial abierto o material no utilizado debe precintarse en recipientes a prueba de fu-gas. Los viales vacíos y los viales usados, así como los componentes del sistema de administración en contacto con el producto (cánula, agujas de inyección y jeringas), gasas, equipo de protección personal y los componentes utilizados para la toma de muestras de líquidos corporales después de la administración se desinfectarán o incinerarán de acuerdo con las normas de tratamiento de residuos con riesgo biológico de los centros hospitalarios.

Se aconsejará a los familiares de los pacientes que sigan las instrucciones para el manejo adecuado de las heces de los pacientes y una buena higiene de las manos cuando entren en contacto directo con los desechos corporales del paciente, durante un mínimo de un mes después del tratamiento con SRP-9001.

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

En caso de vertido accidental de SRP-9001 durante la preparación de la dosis y su administración al paciente por parte del profesional sanitario, se seguirán las instrucciones facilitadas por el manual de la farmacia del Promotor para contener y desinfectar inmediatamente el vertido para evitar más diseminación. Todos los materiales contaminados se desecharán localmente mediante incineración o esterilización en autoclave. Todos los demás lugares se limpiarán de acuerdo con los procedimientos normales de descontaminación, según la orientación de los NIH/CDC para el manejo de agentes con un nivel de bioseguridad 1 y el Manual de la Farmacia.

- Evacue el área, retire el EPI contaminado y deje que los agentes reposen durante un mínimo de 30 minutos. Inicie el procedimiento de respuesta a vertidos.
- Cubra el vertido con material absorbente. Empezando por los bordes y siguiendo hacia el centro.
- Vierta con cuidado desinfectante (solución de lejía fresca al 10 % seguida de toallitas con alcohol) sobre el vertido absorbido, empezando de nuevo por los bordes. Sature el área con desinfectante.
- Deje suficiente tiempo de contacto para desactivar el material del vertido. Los vertidos no viscosos requieren 15-20 minutos; los vertidos viscosos requieren 30 minutos.
- Utilice toallas de papel para limpiar el vertido, actuando desde el borde hasta el centro. Utilice tenazas o pinzas para recoger plásticos o vidrio rotos, u otros objetos punzantes que puedan perforar los guantes.
- Deseche el material absorbente en bolsas de residuos biológicos.
- Limpie el área del vertido con toallas de papel limpias empapadas en

desinfectante. Humedezca a fondo el área del vertido, deje que se desinfecte durante 15-20 minutos más y limpie con toallas.

- Deseche todos los materiales de limpieza (empapados con desinfectante) en una bolsa/contenedor de productos químicos y cualquier EPI contaminado en una bolsa de riesgo biológico. Cierre y asegure las bolsas.
- Coloque la bolsa en una segunda bolsa de peligro biológico, asegúrela y deséchela según las directrices institucionales para residuos biológicos peligrosos.

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

Todos los materiales utilizados en la limpieza se desecharán como residuos clínicos con riesgo biológico o se autoclavarán y se incinerarán.

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

No procede.

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

Se debe obtener la autorización del Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm)/Comité Independiente de Ética (CIE) y de la administración sanitaria local de acuerdo con la legislación y la normativa locales.

1. REFERENCES

1. Chen YW, Nagaraju K, Bakay M, McIntyre O, Rawat R, Shi R, Hoffman EP. Early onset of inflammation and later involvement of TGFbeta in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2005 Sep 27;65(6):826-34. doi: 10.1212/01.wnl.0000173836.09176.c4. Epub 2005 Aug 10. PMID: 16093456.
2. Penaud-Budloo M, François A, Clément N, Ayuso E. Pharmacology of Recombinant Adeno-associated Virus Production. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018 Jan 8;8:166-180. doi: 10.1016/j.omtm.2018.01.002. PMID: 29687035; PMCID: PMC5908265.
3. Schnepf BC, Jensen RL, Chen CL, Johnson PR, Clark KR. Characterization of adeno-associated virus genomes isolated from human tissues. *J Virol*. 2005 Dec;79(23):14793-803. doi: 10.1128/JVI.79.23.14793-14803.2005. PMID: 16282479; PMCID: PMC1287572.
4. Colella P, Ronzitti G, Mingozzi F. Emerging Issues in AAV-Mediated In Vivo Gene Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2017 Dec 1;8:87-104. doi: 10.1016/j.omtm.2017.11.007. PMID: 29326962; PMCID: PMC5758940.
5. Lehtonen E, Tenenbaum L. Adeno-associated viral vectors. *Int Rev Neurobiol*. 2003;55:65-98. doi: 10.1016/s0074-7742(03)01002-x. PMID: 12968531.
6. Howard DB, Harvey BK. Assaying the Stability and Inactivation of AAV Serotype 1 Vectors. *Hum Gene Ther Methods*. 2017 Feb;28(1):39-48. doi: 10.1089/hgtb.2016.180. PMID: 28192678; PMCID: PMC5314999.
7. Kimura T, Ferran B, Tsukahara Y, Shang Q, Desai S, Fedoce A, Pimentel DR, Luptak I, Adachi T, Ido Y, Matsui R, Bachschmid MM. Production of adeno-associated virus vectors for in vitro and in vivo applications. *Sci Rep*. 2019 Sep 19;9(1):13601. doi: 10.1038/s41598-019-49624-w. PMID: 31537820; PMCID: PMC6753157.
8. McCarty DM, Young SM Jr, Samulski RJ. Integration of adeno-associated virus (AAV) and recombinant AAV vectors. *Annu Rev Genet*. 2004;38:819-45. doi: 10.1146/annurev.genet.37.110801.143717. PMID: 15568995.
9. Afione SA, Conrad CK, Kearns WG, Chunduru S, Adams R, Reynolds TC, Guggino WB, Cutting GR, Carter BJ, Flotte TR. In vivo model of adeno-

associated virus vector persistence and rescue. *J Virol.* 1996 May;70(5):3235-41.
doi: 10.1128/JVI.70.5.3235-3241.1996. PMID: 8627804; PMCID: PMC190187.