

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/22/29
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	22/12/2022
d) Título del proyecto:	Estudio clínico de fase 1/2 de la transferencia génica intravenosa con un vector AAVrh10 que expresa GALC en pacientes Krabbe que reciben trasplante de células madre hematopoyéticas (RESKUE).
e) Período propuesto para la liberación:	El período propuesto para la liberación es toda la duración del ensayo clínico, que comenzará en septiembre de 2023 y que se espera que termine en Julio de 2027.

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Forge Biologics Europe SLU Calle Moralarzal 10 28034, Madrid España
-------------------------------------	--

3. Definición del OMG

<p>FBX-101 es un vector de terapia génica diseñado para tratar a pacientes con enfermedad de Krabbe infantil e infantil tardía. FBX-101 es un organismo genéticamente modificado con el serotipo rhesus 10 (AAVrh10) del virus adenoasociado incapaz de replicarse y recombinante como vector vírico. El vector recombinante ha sido manipulado genéticamente para privarlo de los genes AAV naturales, excepto las repeticiones terminales invertidas (RTI), e incluye un casete de expresión para el gen de interés, que es el de la galactocerebrosidasa humana (hGALC). Además, el vector contiene el promotor híbrido de la β-actina de pollo (CAG) y el citomegalovirus (CMV) para lograr una amplia expresión ubicua del gen GALC.</p>
a) Indíquese si el OMG es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/> rAAV—producto de terapia génica no replicativo
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)

Familia: Parvoviridae
 Género: Dependovirus
 Especie: Vector AAVrh.10 incapaz de replicarse

FBX-101 es un organismo modificado genéticamente a partir del AAVrh10. El AAV natural es un miembro del género Dependovirus de la familia Parvoviridae. El serotipo (rhesus 10) fue aislado en mamíferos y es distinto a otros serotipos conocidos del AAV.

- 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 que muestra un elevado grado de estabilidad, como se demuestra por la estrecha relación que guarda con los genes *rep* y *cap* de varios serotipos del AAV. En apoyo de estos datos de homología de secuencia está el hecho de que el AAV utiliza una polimerasa de ADN del huésped para la replicación viral que no es propensa a errores en comparación con las polimerasas de ARN que utilizan los virus de ARN.

Se espera que la estabilidad genética de FBX-101 sea equivalente a la del AAV natural. Como carece de los genes víricos *rep* y *cap*, FBX-101 es incapaz de replicarse y se mantiene en las células del huésped en forma de episomas. Se transcribirá el casete de expresión y las enzimas de las células huéspedes harán la traslación que dé lugar a la expresión de GALC.

Existe la posibilidad de que, en la naturaleza, se produzca una recombinación homóloga espontánea entre los genomas víricos de las cepas del AAV, si el organismo huésped es coinfectado por 2 cepas diferentes del AAV y un virus auxiliar.

No se han observado recombinaciones con otros serotipos del AAV, excepto la recombinación homóloga que se cree que se ha producido entre los serotipos 2 y 3 del AAV, generando un virus híbrido AAV2/3 (Gao et al., 2004). Esto respalda la idea de que solo en circunstancias excepcionalmente infrecuentes, en las que una célula fuera infectada por 2 serotipos diferentes del AAV y un virus auxiliar, se darían las condiciones para que se produzca esa recombinación.

Por eso se espera que FBX-101 sea muy estable desde el punto de vista genético. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de la segunda cadena del genoma del vector dependen de la polimerasa del ADN del huésped, lo que da lugar a una tasa de error muy baja en la replicación del ADN. Como parte de la liberación, la sustancia farmacéutica FBX-101 se somete a secuenciación NextGen para confirmar la identidad del genoma y a análisis de la restricción por digestión para confirmar la integridad de este. Es importante señalar que el genoma del OMG permanece en episomas de las células del huésped, sin integrarse con el de estas.

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: Se pretende solicitar la aprobación del OMG en Alemania (DE) para el estudio FBX-101-REKLAIM en el segundo trimestre de 2023.	

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
- Número de la notificación: B/ES/22/06

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: Estados Unidos
- Número de la notificación: No procede

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

FBX-101 es un AAVrh10 recombinante e incapaz de replicarse que expresa hGALC bajo el control del promotor CAG para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Krabbe infantil e infantil tardía.

El impacto ambiental potencial de la liberación de FBX-101 es despreciable, dado que:

- (1) El AAV no es patógeno y no aparece en la clasificación de la Directiva 2000/54/EC 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, aunque se calcula que la seroprevalencia de algunos de los serotipos habituales en los seres humanos es del 80 al 90 %. En la actualidad el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1, según la Directiva 2000/54/EC (agente biológico con pocas probabilidades de causar enfermedades a los seres humanos). Por eso no se espera que FBX-101 añada ningún riesgo para el personal ni para el entorno en comparación con el AAV natural. Se considera que los riesgos de mutagénesis por inserción son entre escasos y despreciables, ya que la gran mayoría del ADN del vector rAAV persiste dentro de episomas ($\geq 99,5\%$) y no como ADN integrado.
- (2) El AAV natural precisa de la presencia de un virus auxiliar (adenovirus o herpesvirus) para replicar su genoma en el huésped (exclusivamente primates y seres humanos). FBX-101 ha sido manipulado genéticamente para impedir que se replique, tiene una capacidad limitada de infectar a las células de los mamíferos y no infecta a las células de las plantas. Solo sería posible que FBX-101 se replicara en el extremadamente improbable caso de que una célula fuera infectada simultáneamente por el AAV natural y un virus auxiliar como el adenovirus humano o el virus del herpes simple.
- (3) El riesgo teórico de transmisión de FBX-101 a terceros mediante la diseminación viral sigue siendo mínimo, ya que el riesgo de transferencia de vectores AAV a otros seres humanos o animales es muy bajo.

No se han publicado datos sobre la excreción del vector AAVrh10 administrado por vía intravenosa en el ámbito clínico; sin embargo, se puede predecir que se comportará de forma similar al AAV9 y al AAV8 debido a

las similitudes en los perfiles de biodistribución e inmunogenicidad (Hu, Busuttill, & Lipshutz, 2010; Mietzsch et al., 2021; Tanguy et al., 2015; Zhang et al., 2011).

Basándose en los datos existentes sobre el AAV8 y el AAV9, se espera que el máximo nivel de diseminación de OMG se observe en el suero, debido a la vía de administración intravenosa. Además, la carga vírica que se libera en los líquidos corporales tras la administración sistémica es baja en comparación con el nivel necesario para lograr una expresión génica detectable en humanos. Dado que FBX-101 no se puede replicar, no se espera que este OMG sobreviva, se replique ni se propague en el medio ambiente, incluso si se excreta o se elimina intacto del paciente tratado.

- (4) Los pacientes serán objeto de seguimiento durante un total de 24 meses en el ensayo clínico, con un total de 19 visitas de seguimiento. Se recogerán muestras de la excreción del OMG (suero, orina, saliva, heces) desde el momento basal hasta que se obtengan dos resultados negativos consecutivos para cada tipo de muestra. Es improbable que se produzca una transferencia génica horizontal, dadas las características de la secuencia de FBX-101. No existe la posibilidad de conferir una ventaja selectiva a las bacterias u otros microorganismos, ya que FBX-101 no contiene un promotor procariota ni otros tipos de genes de resistencia que potencien o limiten su crecimiento.
- (5) Se ha elegido el serotipo del vector AAVrh10 de este OMG dado su tropismo hacia el sistema nervioso central y periférico. En estudios preclínicos se observó la expresión de hGALC en los tejidos diana y en los órganos importantes tras la administración por vía intravenosa de FBX-101 en una dosis elevada. No hubo resultados anatomopatológicos relacionados con la expresión de hGALC. Para que se produjera una contaminación cruzada involuntaria, la exposición al OMG debería ser mucho menor que la que se obtiene con las dosis que se utilizan en este estudio, por lo que el riesgo de que hGALC cause alguna enfermedad es despreciable.
- (6) El riesgo que se asocia al transgén es mínimo: se han eliminado todos los genes víricos (excepto las RTI) de este OMG, que incorpora una casete de expresión creada por tecnología de ADN recombinante. Por consiguiente, no se producen proteínas ni partículas víricas y no es posible que el ADN se replique. En un estudio de toxicología con BPL en ratas no manipuladas no se observaron efectos adversos relacionados con la expresión transgénica en dosis elevadas. La proteína que codifica el transgén es una enzima lisosómica (la galactocerebrosidasa humana) que se expresa en personas sanas y que es responsable del catabolismo normal del importante componente galactolipídico de la mielina. Por eso es improbable que este transgén sea tóxico para el ser humano o para otros microorganismos. En el OMG no se han insertado genes de toxinas, oncogenes potenciales, factores de crecimiento ni otros genes que sean nocivos.

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"/> virus ADN monocatenario, ya sea en sentido positivo o negativo. Contiene RTI del serotipo 2 (AAV2) y la cápside del serotipo rh10 (AAVrh10).
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales):
ii) Género: <i>Parvoviridae</i>
iii) Especie: <i>Dependovirus</i>
iv) Subespecie: <i>Dependovirus</i>
v) Cepa: Serotipo rh.10
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: RTI del serotipo 2 (AAV2) con la cápside del serotipo rh.10 (AAVrh.10)

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 AAV natural persiste en sus huéspedes (seres humanos y primates), donde permanece activo por tiempo indefinido. Puede considerarse que, debido a su dependencia de un virus auxiliar para la replicación, presenta estacionalidad. Puede que en las regiones en las que hay adenovirus estacionales (habitualmente el otoño, el invierno y el principio de la primavera) también haya infecciones estacionales por el AAV.

En la naturaleza, el AAV se disemina por inhalación de gotículas aerosolizadas, contacto con las mucosas o ingestión, pero no causa ninguna enfermedad en el ser humano. Se ha aislado AAVrh10 en macacos cangrejeros, aunque también pueden ser huéspedes otros animales y el ser humano.

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

5. a) Técnicas de detección

El AAV se puede detectar con métodos de amplificación del ADN que utilicen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (PCR digital de gotícula [ddPCR, por su sigla en inglés]), con cebadores específicos del genoma vírico.

5. b) Técnicas de identificación

La identidad del AAVrh.10 se puede confirmar por secuenciación. También se puede confirmar por espectrometría de masas para confirmar el perfil adecuado de la proteína VP3 del AAVrh10 de forma específica del serotipo.

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

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

En caso afirmativo, especifíquese:

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

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

Los AAV se encuentran a menudo en los seres humanos y en los animales pero no son patógenos, tóxicos, virulentos, alergénicos ni portadores (vectores) de un agente patógeno. Los huéspedes generales conocidos son los seres humanos y los primates no humanos. En condiciones naturales, los AAV necesitan un virus auxiliar para replicarse. Los AAV no activan virus latentes ni pueden colonizar a otros organismos.

El AAV natural no es patógeno y no aparece en la clasificación de la Directiva 2000/54/EC 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, aunque se calcula que la seroprevalencia de algunos de los serotipos habituales en los seres humanos es de hasta el 80 %. En consecuencia, el AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1, según la Directiva 2000/54/EC (agente biológico con pocas probabilidades de causar enfermedades a los seres humanos).

Además, a los AAV no se les ha asignado un comité asesor sobre patógenos peligrosos (ACDP, por su sigla en inglés), por lo que los virus AAV recombinantes también se incluyen en el grupo o clase 1 de bioseguridad. Se han asignado clasificaciones similares de riesgo a los AAV de conformidad con las definiciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en los EE. UU., en Canadá y en Australia.

Si bien en este ensayo se tomaran medidas de seguridad como si fuera un agente biológico del grupo 2.

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:

En condiciones naturales, los AAV necesitan un virus auxiliar para replicarse. Por consiguiente, su tiempo de generación es variable y depende de la presencia o de la ausencia de un virus auxiliar.

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

Como se ha indicado en el punto 8 (a)., el AAV solo se replica en presencia de un

virus auxiliar. Por consiguiente, su tiempo de generación es variable y depende de la presencia o de la ausencia de un virus auxiliar.

c) Modo de reproducción Sexual N/P Asexual N/P

d) Factores que afectan a la reproducción:

El AAV natural necesita un virus auxiliar (adenovirus o herpesvirus) para replicarse de forma eficaz. En ausencia de un virus auxiliar, el AAV es incapaz de reproducirse.

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) Ninguna

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

El AAV no forma estructuras de supervivencia pero puede permanecer infeccioso durante al menos un mes a temperatura ambiente tras la desecación o la liofilización simples. Los parvovirus como el AAV son virus estables que pueden persistir en el entorno durante períodos prolongados de tiempo (se cree que durante varias semanas). Las partículas del AAV son resistentes a una gran variedad de pH (pH 3 a 9) y pueden resistir temperaturas elevadas (55 °C durante 1 hora). El AAV no forma estructuras de supervivencia. Pero, como todos los virus, no puede reproducirse fuera de una célula huésped.

Todos los AAV son sensibles a los desinfectantes viricidas adecuados con actividad contra virus sin envoltura como el hipoclorito sódico al 1 al 10 % (durante 20 minutos como mínimo), las soluciones alcalinas a pH >9, el fenol al 5 %, el calor (>80 °C durante 60 minutos), la radiación UV y los pH extremos (<2 y >12). Los desinfectantes eficaces necesitan un tiempo de contacto de 20 minutos como mínimo.

10. a) Vías de diseminación

El AAV natural se disemina por gotículas respiratorias aerosolizadas, contacto con las mucosas, transmisión fecal-oral y transmisión conjuntival y sexual directa.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

El AAV natural solo es capaz de replicarse en células huéspedes que hayan sido coinfectados por un virus auxiliar (adenovirus o virus del herpes simple).

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
- 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

FBX-101 es un AAVrh10 recombinante manipulado genéticamente. Todas las secuencias codificantes de proteínas víricas (excepto las RTI) se han sustituido por un casete de expresión completa que contiene el gen hGALC y las secuencias reguladoras adicionales que se necesitan para la expresión transgénica, como el promotor CAG y la secuencia de poliadenilación.

Estas modificaciones genéticas inducen una pérdida total de la capacidad de replicación al tiempo que permiten la expresión del gen hGALC en las células transducidas. La modificación genética permite la entrega eficiente de hGALC a los tejidos diana y la subsiguiente actividad enzimática en el sistema nervioso central y el sistema nervioso periférico de los pacientes con la enfermedad de Krabbe.

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

Sí

No

En caso negativo, pase a la pregunta 5.

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector:	
Para fabricar el OMG se utilizan tres plásmidos:	
<ul style="list-style-type: none"> • El plásmido pGOI-hGALC contiene las RTI del AAV2, el casete de expresión de hGALC y sus elementos reguladores. • El plásmido pAAVrep2.1capRH10 contiene la información necesaria para formar la cápside de AAVrh10. • El plásmido auxiliar pEMBRTM interviene en la fabricación de FBX-101 para contribuir al empaquetado de AAVrh10 y no está presente en el producto terminado. 	
c) Gama de organismos huéspedes del vector:	
Los plásmidos pueden replicarse en células de <i>E. coli</i> (bacteriano). Los AAV naturales pueden replicarse en células de mamíferos con coinfección con un virus ayudante (adenovirus o herpesvirus)..	
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 tres plásmidos contienen un gen de resistencia a los antibióticos que permite la amplificación selectiva del plásmido que se encuentra en <i>E. coli</i> . Este gen de resistencia solo está presente en la cadena principal del plásmido y no se empaqueta en el OMG final, por lo que no está presente en el producto farmacéutico FBX-101.	

e) Fragmentos constituyentes del vector	
f) Método de introducción del vector en el organismo receptor	
i) transformación	<input type="checkbox"/>
ii) electroporación	<input type="checkbox"/>
iii) macroinyección	<input type="checkbox"/>
iv) microinyección	<input type="checkbox"/>
v) infección	<input type="checkbox"/>
vi) otros, (especifíquense) transfección	

Los componentes del vector que se utilizan para fabricar FBX-101 se producen transfectando una suspensión de células HEK293 humanas con tres plásmidos que contienen la secuencia necesaria para generar el AAV recombinante, a saber, el plásmido de expresión recombinante que se encuentra entre las 2 RTI, los genes de la cápside y los genes auxiliares.

El OMG terminado solo contendrá el casete de expresión recombinante como secuencia genética. Las proteínas víricas constituirán la cápside, y los genes auxiliares solo se utilizan en el empaquetado del vector.

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:
El plásmido pGOI-hGALC codifica el casete de expresión y contiene el gen GALC humano flanqueado por dos RTI de AAV2. También incluye el promotor CAG, que es un promotor híbrido diseñado para la expresión génica de alto nivel, una secuencia de poliadenilación para que la terminación de la transcripción sea eficaz

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

- 1) RTI del serotipo 2 de AAV
- 2) Promotor CAG (híbrido del CMV, la β -actina de pollo y la β -globina de conejo)
- 3) Gen GALC humano del ADNc del GALC
- 4) Señal de poliadenilación procedente del gen de la β -globina de conejo

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

1. RTI: las RTI actúan como origen de la replicación del ADN del virus y de la señal de empaquetado de la cápside o del genoma. Las secuencias RTI son el único elemento cis que se necesita del AAV natural para empaquetar las partículas del vector.
2. Promotor CAG: dirige la expresión constitutiva y de alto nivel del gen GALC humano.
3. Gen GALC humano: esta secuencia permite la correcta producción del gen GALC y de la consiguiente proteína GALC, que es la que lleva a cabo la corrección funcional de la enfermedad por depósito lisosómico.
4. Señal de poliadenilación: es una secuencia cis que se utiliza para que la poliadenilación del transcrito de ARNm de GALC sea eficaz. Actúa como señal de finalización de la transcripción con un episodio de escisión clave en el extremo 3' del transcrito formado y la adición de una larga cola poliadenílica.

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense): El fragmento de inserción que se ha descrito es recombinante y sustituye por completo al genoma del huésped o del organismo parental (AAVrh10 y AAV2).

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

Sí No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Primates</i>
ii) Familia (plantas):
iii) Género: <i>Homo</i>
iv) Especie: <i>Sapiens</i>
v) Subespecie: <i>Sapiens</i>
vi) Cepa:
vii) Cultivar/línea de reproducción:
viii) Patovar:
ix) Nombre vulgar: <i>Humano</i>

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

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

En caso afirmativo, especifíquese		
a) ¿para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) ¿están implicadas de alguna forma las secuencias donadas en las propiedades patógenas o nocivas del organismo?		
Sí	No	No se sabe
<input type="checkbox"/>	<input checked="" 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 type="checkbox"/>	No <input checked="" 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

El OMG que se segrega por los líquidos corporales tiene supervivencia y estabilidad similares a las del AAV natural. El OMG está desprovisto de cualesquiera genes víricos necesarios para la replicación, por lo que es incapaz de replicarse aun en presencia de un virus auxiliar. Todos los AAV son sensibles a los desinfectantes viricidas adecuados con actividad contra virus sin envoltura como el hipoclorito sódico al 1 al 10 % (durante 20 minutos como mínimo), las soluciones alcalinas a pH >9, el fenol al 5 %, el calor (>80 °C durante 60 minutos), la radiación UV y los pH extremos (<2 y >12). Los desinfectantes eficaces necesitan un tiempo de contacto de 20 minutos como mínimo.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

El OMG es un AAV recombinante incapaz de replicarse.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Dado que el OMG es incapaz de replicarse, su diseminación se limita a su administración a los pacientes del estudio clínico. Los pacientes estarán ingresados durante unas 48 horas en la unidad de trasplantes del Pediatric Cancer Center del Hospital Sant Joan de Déu bajo estricta supervisión de la diseminación del OMG inicial por los líquidos del organismo. A los pacientes y a los cuidadores se les entregarán instrucciones para neutralizar cualquier líquido corporal que excreten después del alta para impedir la liberación del OMG.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

El AAV no es patógeno. Las modificaciones genéticas que condujeron a la generación de FBX-101 no aumentan la patogenicidad del OMG. Por consiguiente, el OMG, que es un AAV incapaz de replicarse, no es patógeno.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus de ADN monocatenario con un alto grado de estabilidad genética, por lo que se espera que FBX-101 también sea estable desde el punto de vista genético.

El OMG y su casete de expresión se evalúan con diversas pruebas para confirmar la integridad y la estabilidad genética de FBX-101. Se analizan la integridad del transgén empaquetado por digestión de restricción y análisis en gel alcalino, la identidad de la cápside por espectrometría de masas y la identidad de la secuencia por secuenciación NextGen.

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		
<p>Letra d del punto 11 de la letra A de la sección II del anexo III: los virus AAV recombinantes pueden infectar células de seres humanos y de primates no humanos, pero no son patógenos, ni tóxicos, ni virulentos, ni alergénicos ni portadores (vectores) de un patógeno. No se replican ni activan otros virus latentes ni pueden colonizar a otros organismos.</p> <p>Letra i del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III: En lo que respecta a la salud de los seres humanos, los animales y las plantas, el AAV recombinante no es tóxico ni tiene efectos alergénicos, y sus productos no representan efectos tóxicos ni alergénicos. El AAV recombinante no es patógeno ni tienen capacidad de colonizar, aunque puede persistir en las células infectadas en forma de episoma.</p> <p>Los AAV recombinantes se han utilizado mucho para insertar genes en modelos de animales y en la actualidad se están evaluando en la terapia génica en seres humanos, después del éxito de diversos ensayos clínicos sobre el tratamiento de enfermedades hereditarias, degenerativas o adquiridas.</p>		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

<p>a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:</p> <p>FBX-101 será detectado mediante ddPCR con cebadores específicos de la secuencia del AAV. El correcto diseño del cebador garantiza la detección específica del OMG. Con esta técnica se analizarán muestras de diseminación obtenidas en el ensayo clínico, lo que permitirá la detección sensible y la cuantificación de los perfiles de diseminación.</p> <p>También se podrán detectar partículas de AAV mediante ELISA. Se trata de un método indirecto capaz de detectar y cuantificar la cantidad total de anticuerpos creados por el organismo contra la cápside del AAV. Se analizarán con ELISA muestras del ensayo clínico, para determinar los anticuerpos totales contra el AAV. También podrá hacerse una secuenciación específica del OMG para identificarlo en el medio ambiente.</p>
<p>b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:</p> <p>Todas las técnicas que se citan en el punto (a) son procedentes, puesto que son específicas del OMG.</p>

F. Información sobre la liberación

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

Estudio de fase 1/2 de terapia génica con FBX-101 en pacientes pediátricos (principalmente recién nacidos, lactantes, niños de 12 a 36 semanas de edad y niños pequeños) para evaluar la seguridad y la eficacia preliminar del OMG propuesto. No se espera ningún beneficio 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:

El hábitat natural del AAVrh10 natural son células huésped de primates. FBX-101 se administrará a seres humanos en el contexto de un estudio de fase 1/2 de terapia génica en pacientes pediátricos con enfermedad de Krabbe.

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

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

El OMG se administrará por vía intravenosa a pacientes pediátricos en la Unidad de Transplantes del Pediatric Cancer Center del Hospital Sant Joan de Déu, que se encuentra en el Passeig de Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues de Llobregat, Barcelona.

- b) Área del lugar (m²):

i) lugar real de la liberación (m²): No procede. No es posible definir un tamaño específico del lugar de la liberación porque FBX-101 se administrará a los pacientes como parte de un ensayo clínico.

ii) área de liberación más amplia (m²): No procede. No es posible definir un tamaño específico del lugar de la liberación porque FBX-101 se administrará a los pacientes como parte de un ensayo clínico.

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

No procede. Los pacientes recibirán una sola administración de FBX-101 por vía intravenosa en un hospital, por lo que no se espera que, al hacerlo (en una habitación aislada del hospital convenientemente señalizada y controlada) entre en contacto con ningún biotopo ni zona protegida reconocidos.

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

FBX-101 solo se administrará en una zona del hospital convenientemente controlada por lo que no se prevé que se ponga en contacto con la flora ni con la fauna, ya sean cultivos, ganado o especies migratorias.

Además, como parte de las medidas de control aplicadas, los líquidos corporales de los pacientes tratados (que pueden contener el OMG diseminado) se neutralizarán con lejía al 10 % antes de su eliminación por el alcantarillado habitual hasta 90 días después del tratamiento. Se espera que estos procedimientos y el hecho de que el OMG es incapaz de replicarse minimicen la interacción con la flora, la fauna, el ganado o las especies migratorias.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Se desconoce la cantidad de pacientes que se inscribirán en el Hospital Sant Joan de Déu. La posología depende del peso corporal del paciente. En total (en todos los centros) tres pacientes recibirán una dosis baja de FBX-101. Tres pacientes recibirán la dosis alta (aproximadamente 3× dosis baja). Todos los pacientes recibirán una sola perfusión por vía intravenosa de FBX-101 en una vena de una extremidad.

Se espera que el OMG se excrete por los líquidos biológicos en cantidades muy pequeñas durante los días siguientes a su administración. Se espera que al cabo de 90 días los resultados de la diseminación clínica sean negativos.

b. Duración de la operación:

El medicamento FBX-101 necesita una preparación específica de acuerdo con el Manual de Farmacia del estudio RESKUE, el día de la administración con la antelación necesaria para llevar a cabo el tratamiento, pero sin que se produzcan esperas para el mismo. La Farmacia de Investigación del Pediatric Cancer Center del Hospital San Joan de Deu (HSJD) realizará la preparación de la medicación en una cabina de seguridad biológica de flujo laminar vertical de clase II, utilizando como mínimo una bata de un solo uso, protector ocular, mascarilla quirúrgica, guantes, gorro y polainas. Esta preparación de medicación siempre será realizada por el técnico de farmacia o el farmacéutico, entrenados en los procedimientos del estudio y la manipulación de OMG y residuos biopeligrosos de tipo 2, con una segunda persona delegada que verificará que se ha preparado correctamente. La Farmacia de Investigación completará los correspondientes formularios relacionados con la preparación, contabilidad y destrucción de la medicación. La preparación de la medicación no debería de extenderse más de 60-90 minutos, para descongelar el producto y cargarlo en el kit de infusión proporcionado por el promotor.

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

Del almacenamiento, la preparación y la administración de FBX-101 se ocuparán profesionales médicos convenientemente preparados en un hospital, y solo lo administrarán a los pacientes que cumplan los criterios de inclusión del estudio clínico. El personal seguirá las políticas de residuos y eliminación y los requisitos locales del centro en relación con los materiales biopeligrosos (residuo hospitalario del grupo III) para eliminar los consumibles utilizados en la preparación y

administración del OMG.

El OMG se almacenará en una zona con acceso limitado. Todo el personal que intervenga en este ensayo utilizará prácticas BSL-2 durante el transporte y antes, durante y después de la administración del OMG y hasta su eliminación final. Los pacientes estarán ingresados durante unas 48 horas después de la perfusión del OMG, para supervisarlos estrechamente. La posible presencia de OMG en la orina y las heces se mitigará mediante la neutralización de los residuos con lejía al 10 % durante al menos 90 días después de la administración de OMG. En caso de derrame, se limitará el perímetro de este con toallas de papel y se utilizará un agente viricida adecuado para limpiar la zona. Los AAV son sensibles a los desinfectantes viricidas adecuados con actividad contra virus sin envoltura como el hipoclorito sódico al 1 al 10 % (durante 20 minutos como mínimo), las soluciones alcalinas a pH >9,5, el fenol al 5 %, el calor (>80 °C durante 60 minutos), la radiación UV y los pH extremos (<2 y >12). Los vectores adenoasociados son susceptibles a desinfectantes viricidas con actividad frente a virus sin envoltura, como hipoclorito sódico del 1% al 10% (durante al menos 20 minutos), soluciones alcalinas de pH >9,5, fenol al 5%, calor a más de 80°C durante 60 minutos), radiación UV y pH extremo (inferior a 2 y superior a 12). De acuerdo con esta información, en el Hospital Sant Joan de Deu (HSJD), se seguirán las siguientes medidas de limpieza:

- En la Farmacia de Investigación, la limpieza se realizará con TRISTEL según el protocolo de limpieza del producto. Todas las superficies se descontaminarán con agentes adecuados, como una dilución 1:10 de una solución de hipoclorito sódico (lejía) al 5,25%.

- En caso de derrame accidental del OMG, se utilizará un kit de recogida estándar (Meliseptol, que incluye cobertura para Adenovirus) y el personal seguirá un protocolo establecido internamente para este tipo de productos.

- La limpieza del instrumental y de las salas se realizará según el protocolo de limpieza hospitalaria aprobado por la comisión de infecciones, que incluye el uso de Oxivir H+.

- La posible presencia de OMG en orina y heces se mitigará neutralizando los residuos con lejía al 10%. durante al menos 90 días tras la administración del OMG. Para el transporte al lugar de administración, en una sala individual de hospital, la Farmacia de Investigación introducirá el/los equipo(s) de infusión con el fármaco FBX-101 cargado en una bolsa herméticamente cerrada que luego se colocará dentro de una segunda bolsa con cierre, y finalmente todo ello se colocará en un contenedor resistente a derrames marcado con un símbolo de riesgo biológico y OMG. Los equipos de infusión, las bolsas y el contenedor secundario se vigilarán para detectar cualquier derrame o fuga.

La sala donde se realizará el tratamiento deberá estar señalizada de acuerdo a las medidas de bioseguridad BSL-2, todo el personal de enfermería de la planta será informado del procedimiento y un único acompañante del paciente podrá estar presente durante el procedimiento con bata, mascarilla quirúrgica y guantes. En la Farmacia de Investigación, la limpieza se realizará con TRISTEL según el protocolo de limpieza del producto. Todas las superficies se descontaminarán con agentes adecuados, como una dilución 1:10 de una solución de hipoclorito sódico (lejía) al 5,25%.

Todos los materiales utilizados para la administración del fármaco, incluidos los paños estériles y las agujas en contacto con OMG, deben sellarse en contenedores primarios y secundarios a prueba de fugas. Todos los residuos sólidos deben ser empacutados doblemente en bolsas de riesgo biológico, selladas con cinta adhesiva

y procesadas como residuos hospitalarios del grupo III. Los residuos líquidos se descontaminarán utilizando un desinfectante químico adecuado o se esterilizarán en autoclave. En caso de derrame accidental del OMG, se utilizará un kit de recogida habitual (Meliseptol, que incluye cobertura para Adenovirus) y el personal seguirá un protocolo establecido internamente para este tipo de productos

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

El OMG se conservará a -65 °C en la Farmacia de Investigación del Pediatric Cancer Center del Hospital San Joan de Deu (HSJD). El OMG se preparará y utilizará en el hospital de acuerdo al Manual de Farmacia del estudio, en las condiciones ambientales normales y de conformidad con los procedimientos internos del hospital (véanse también las secciones 4 (b) y (c)).

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

No existen datos sobre liberaciones anteriores de FBX-101. No obstante, se espera que FBX-101 no tenga repercusión en el medio ambiente ni en la salud humana, dado que no es patogénico y que es incapaz de replicarse. Hasta ahora no se ha informado de efectos medioambientales tras la liberación de OMG similares con diferentes serotipos de AAV utilizados en estudios clínicos.

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):	
iii) Género:	<i>Homo</i>
iv) Especie:	<i>Sapiens</i>
v) Subespecies:	<i>Sapiens</i>
vi) Cepa:	
vii) Cultivar/Línea de reproducción:	
viii) Patovar:	
ix) Nombre vulgar:	Humano

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

La transferencia génica de FBX-101 se evaluará en dos estudios clínicos en España durante un período de 3 años, aproximadamente. Los estudios propuestos se han diseñado para evaluar la seguridad y la eficacia de la restauración de hGALC a cargo de FBX-101 en pacientes con enfermedad de Krabbe infantil e infantil tardía. Se prevé que el promotor CAG confiera una expresión transgénica eficaz a largo plazo y se traduzca en un hGALC funcional con el potencial de proporcionar un beneficio clínico en la supervivencia, las habilidades motoras y otras medidas exploratorias a los pacientes con la enfermedad de Krabbe. El OMG no se integrará en el genoma del huésped dado que los AAV no se integran y se mantienen dentro de episomas en las células del huésped.

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

No se prevén. El OMG es un AAV incapaz de replicarse y su excreción por la orina en las aguas residuales se mitigará neutralizándola con lejía al 10 %.

Es improbable que terceros se vean expuestos a niveles de FBX-101 que puedan representar un peligro. Los posibles peligros de la exposición a FBX-101 como resultado de una exposición accidental (p. ej., por pincharse con una aguja), siguen siendo despreciables si tenemos en cuenta que: (i) será necesario inyectar dosis elevadas de FBX-101 para que represente una expresión génica significativa o riesgos potenciales de seguridad en los seres humanos; y (ii) en la preparación, administración y eliminación de FBX-101 o de materiales o residuos de contacto

relacionados con FBX-101 solo participará personal capacitado.

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: FBX-101 es incapaz de replicarse y por lo tanto no puede responder a las presiones de la selección		

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

FBX-101 será manipulado en el Hospital San Joan de Deu (HSJD) en Barcelona con medidas de bioseguridad BSL-2 y siguiendo los procedimientos internos correspondientes para los residuos biológicos. Es probable que la diseminación se produzca a niveles bajos o residuales y no se prevé el establecimiento porque FBX-101 es incapaz de replicarse.

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):
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:
Es improbable que se produzca una transferencia génica horizontal, dadas las características de la secuencia de FBX-101. No existe la posibilidad de conferir una ventaja selectiva a las bacterias u otros microorganismos, ya que FBX-101 no contiene un promotor procariota ni otros tipos de genes de resistencia que potencien o limiten su crecimiento. Por lo tanto, es poco probable que FBX-101 interfiera en el control de los microorganismos patógenos o que tenga un efecto sobre la dinámica

natural de las poblaciones microbianas o los ciclos biogeoquímicos en un lugar determinado del medio ambiente.

No se espera que se produzca un intercambio génico con el organismo ni con ningún aspecto del ecosistema. El OMG se liberará al medio ambiente en cantidades muy pequeñas y es incapaz de replicarse. En la circunstancia extrema de que se liberen partículas de OMG para que lleguen a un huésped humano o a un primate no humano, no se esperan efectos tóxicos del propio OMG ni de la expresión de la enzima hGALC en la especie huésped (véase también el apartado G.3).

b) De otros organismos al OMG:

No se prevén.

La posibilidad de recombinación homóloga con otros virus afines que podría dar lugar a variantes del OMG se considera despreciable teniendo en cuenta que: (i) a excepción de las secuencias RTI, FBX-101 carece de secuencias genéticas virales; y (ii) solo en circunstancias extremadamente raras, en las que una célula es infectada simultáneamente por 2 serotipos diferentes de AAV y un virus auxiliar (infección triple), se darían las condiciones adecuadas para que se produzca dicha recombinación.

Además, se considera improbable una recombinación entre FBX-101 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga tanto el transgén como los genes *rep* y *cap* del AAV, ya que dicho genoma híbrido sería demasiado grande para empaquetar el ADN híbrido en una partícula de AAV, considerando que el AAV tiene una capacidad de empaquetamiento limitada de aproximadamente 4,7-5,3 Kb (Dong, Nakai, & Xiao, 2010). Por lo tanto, la probabilidad de que el ADN de cualquier organismo se incorpore al genoma de FBX-101 o se transfiera a los episomas virales se considera despreciable.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Ninguna

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.)

En las notificaciones voluntarias de liberación de otros serotipos de AAV no se ha indicado efecto medioambiental alguno. Se espera que el OMG se degrade tras su administración a los seres humanos por las vías catabólicas endógenas de las proteínas y el ADN. No es de esperar que el ADN de OMG diseminado sea estable en las aguas residuales.

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

No procede

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El potencial de liberación del OMG en el medio ambiente se analizará en el suero, la saliva, la orina y las heces de todos los pacientes tratados según el protocolo del ensayo clínico. Se obtendrán muestras los días 0, 1, 2, 7, 14, 30, 45, 60, 75, 90, 120 y 150 y al mes 6, 9, 12, 18 y 24 después de la administración del OMG. En las muestras se buscará y cuantificará el OMG con un método de ddPCR específico. Si se obtienen dos resultados negativos consecutivos en una matriz, se suspenderá la obtención de muestras de dicha matriz.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No procede

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

No procede

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

No procede. No es posible definir un tamaño específico del lugar de la liberación porque FBX-101 se administrará a los pacientes como parte de un ensayo clínico. Los líquidos corporales de los pacientes se medirán en el marco del control de los OMG y se neutralizarán antes de su liberación al medio ambiente.

5. Duración del seguimiento

Como se ha destacado en el apartado H.1, la excreción del OMG se analizará hasta que se obtengan 2 resultados negativos consecutivos para esa matriz.

6. Frecuencia del seguimiento

Se obtendrán muestras los días 0, 1, 2, 7, 14, 30, 45, 60, 75, 90, 120 y 150 y al mes 6, 9, 12, 18 y 24 después de la administración del OMG. La excreción del OMG se analizará hasta que se obtengan 2 resultados negativos consecutivos para esa matriz.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La descontaminación se hará de acuerdo a los procedimientos del centro hospitalario e instrucciones del manual de farmacia proporcionado por el promotor.

En caso de derrame, se limitará el perímetro de este con toallas de papel y se utilizará un agente viricida adecuado para limpiar la zona. Los AAV son sensibles a los desinfectantes viricidas adecuados con actividad contra virus sin envoltura como el hipoclorito sódico al 1 al 10 % (durante 20 minutos como mínimo), las soluciones

alcalinas a pH >9,5, el fenol al 5 %, el calor (>80 °C durante 60 minutos), la radiación UV y los pH extremos (<2 y >12).

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todo el equipo utilizado en el procedimiento se eliminará de acuerdo con los procedimientos actuales de riesgo biológico o se descontaminará con agentes viricidas según lo dictado por el plan local de gestión de residuos de riesgo biológico aprobado por la comisión de bioseguridad local del hospital.

Se tratará a los pacientes como se indica en el apartado F.3(d).

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los componentes del sistema de administración intravenosa, las gasas, el EPI (Equipo de Protección Individual) y los tubos de recogida de muestras son ejemplos de residuos generados. No es posible estimar el volumen final de residuos, pero se calcula que no será elevado teniendo en cuenta el escaso número de pacientes que se espera tratar en el centro. Todos los residuos se eliminarán de acuerdo con los planes locales de gestión de residuos como residuos hospitalarios del grupo III.

3. (b) Tratamiento de residuos

Los viales utilizados para la preparación de un tratamiento se almacenarán para su envío inmediato a las instalaciones del depósito europeo de productos en investigación. Estos viales se almacenarán hasta el final del estudio en los depósitos de productos en investigación hasta el final del ensayo. Si esto no fuera posible debido a procedimientos internos, la eliminación de los viales usados se realizará en el centro de acuerdo con las prácticas institucionales para residuos hospitalarios del Grupo III.

Todos los materiales utilizados para la administración de la medicación se introducirán en doble bolsa con símbolos de riesgo biológico, se sellarán con cinta adhesiva y se procesarán como residuos hospitalarios del grupo III BSL-2 material de riesgo biológico. Los residuos líquidos que puedan contener trazas de FBX-101 se descontaminarán utilizando un desinfectante químico adecuado o se esterilizarán en autoclave de acuerdo con las prácticas institucionales para residuos hospitalarios del grupo III.

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 diseminación imprevista, se delimitará la zona afectada con toallas de papel y se descontaminará con los desinfectantes adecuados, tal y como se indica en el apartado I.1.

En caso de lesión, la zona lesionada se desinfectará adecuadamente según las normas de las mejores prácticas de bioseguridad y los procedimientos internos.

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

En la Farmacia de Investigación, la limpieza se realizará con TRISTEL de acuerdo con el protocolo de limpieza del producto. Todas las superficies se descontaminarán con agentes adecuados, como una dilución 1:10 de una solución de hipoclorito sódico (lejía) al 5,25%.

La limpieza del instrumental y de las habitaciones se realizará según el protocolo de limpieza hospitalaria aprobado por la comisión de infecciones, que incluye el uso de Oxivir H+.

El personal sanitario llevará ropa protectora. En caso de derrame, se cubrirá la zona con toallas de papel y se utilizará un desinfectante químico adecuado durante un mínimo de 20 minutos.

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 porque los AAV no se transducen a las células de las plantas.

Además, FBX-101 solo se administrará en un entorno hospitalario controlado y, como tal, no se espera que entre en contacto con plantas, animales o el suelo.

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

Los profesionales de la salud, los cuidadores y el personal que intervenga en la atención al paciente, así como en la manipulación, preparación, administración y eliminación de organismos modificados genéticamente, seguirán los procedimientos/prácticas estándar locales e institucionales pertinentes para los materiales de riesgo biológico y las normas BSL-2. Solo participará personal capacitado; y todas las áreas e instalaciones que gestionen este OMG se limpiarán como se ha descrito anteriormente en la sección F.4(c). Además, se proporcionarán recomendaciones de seguridad y orientación sobre la gestión de incidentes relacionados con FBX-101 a todos los investigadores y al personal que se relacione con este OMG.

El personal implicado en estos procedimientos utilizará al menos bata de un solo uso, protector ocular, mascarilla quirúrgica, guantes, gorro y mallas.

Se pedirá a todos los pacientes que se inscriban en un estudio de seguridad de seguimiento a largo plazo tras completar el ensayo. Los acontecimientos adversos serán registrados y evaluados por los investigadores del ensayo clínico y se notificará a las autoridades competentes cuando sea pertinente.

REFERENCIAS

- Dong, B., Nakai, H., & Xiao, W. (2010). Characterization of genome integrity for oversized recombinant AAV vector. *Mol Ther*, 18(1), 87-92.
doi:10.1038/mt.2009.258
- Gao, G., Vandenberghe, L. H., Alvira, M. R., Lu, Y., Calcedo, R., Zhou, X., & Wilson, J. M. (2004). Clades of Adeno-associated viruses are widely

- disseminated in human tissues. *J Virol*, 78(12), 6381-6388. doi:10.1128/JVI.78.12.6381-6388.2004
- Hu, C., Busuttil, R. W., & Lipshutz, G. S. (2010). RH10 provides superior transgene expression in mice when compared with natural AAV serotypes for neonatal gene therapy. *J Gene Med*, 12(9), 766-778. doi:10.1002/jgm.1496
- Mietzsch, M., Yu, J. C., Hsi, J., Chipman, P., Broecker, F., Fuming, Z., . . . Agbandje-McKenna, M. (2021). Structural Study of Aavrh.10 Receptor and Antibody Interactions. *J Virol*, 95(23), e0124921. doi:10.1128/JVI.01249-21
- Tanguy, Y., Biferi, M. G., Besse, A., Astord, S., Cohen-Tannoudji, M., Marais, T., & Barkats, M. (2015). Systemic AAVrh10 provides higher transgene expression than AAV9 in the brain and the spinal cord of neonatal mice. *Front Mol Neurosci*, 8, 36. doi:10.3389/fnmol.2015.00036
- Zhang, H., Yang, B., Mu, X., Ahmed, S. S., Su, Q., He, R., . . . Gao, G. (2011). Several rAAV vectors efficiently cross the blood-brain barrier and transduce neurons and astrocytes in the neonatal mouse central nervous system. *Mol Ther*, 19(8), 1440-1448. doi:10.1038/mt.2011.98