

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/26/07
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	27/03/2026
d) Título del proyecto:	Administración intratecal de MELPIDA para la paraplejia espástica hereditaria tipo 50 (SPG50): ensayo multicéntrico de fase III, abierto, con grupo de control prospectivo simultáneo emparejado (CT-MEL-03)
e) Período propuesto para la liberación:	Desde Jun-2026 a Dic-2031

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Elpida Therapeutics 16501 Ventura Blvd. Suite 400 Encino, CA 91436 Estados Unidos
-------------------------------------	--

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
	Viroide <input type="checkbox"/>
	Virus ARN <input type="checkbox"/>
	Virus ADN <input checked="" type="checkbox"/>
	Bacteria <input type="checkbox"/>
	Hongo <input type="checkbox"/>
	Animal <input type="checkbox"/>
	- mamíferos <input type="checkbox"/>

- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase

Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)

b) Identidad del OMG (género y especie)

El OMG, AAV9/AP4M1, consiste en un vector recombinante derivado de virus adenoasociado, perteneciente al género Dependoparvovirus y a la especie virus adenoasociado 9 (AAV9), diseñado para la transferencia génica terapéutica. El vector está compuesto por una cápside de AAV9 que encapsida un genoma monocatenario autocomplementario (scAAV) que contiene el cassette de expresión del gen humano optimizado AP4M1, bajo el control de un promotor sintético, junto con las secuencias reguladoras necesarias (incluyendo señal de poliadenilación), todo ello flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (ITR) esenciales para el empaquetamiento.

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

La estabilidad genética del OMG está garantizada por el diseño del vector, que contiene únicamente el cassette de expresión del transgén flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (ITR), sin incluir genes virales implicados en la replicación o recombinación. La secuencia del genoma vectorial ha sido confirmada mediante secuenciación (Sanger), mostrando conformidad con la secuencia de referencia, y el proceso de fabricación bajo condiciones GMP (normas de correcta fabricación, del inglés *Good Manufacturing Practices*) asegura la consistencia genética entre lotes. Asimismo, al no integrarse de forma activa en el genoma del huésped y permanecer predominantemente en forma episomal, el vector presenta un bajo riesgo de inestabilidad genética o de generación de variantes.

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 type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país: IT, DK	

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

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

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

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo: - Estado miembro de la notificación: USA - Número de la notificación: IND 28202 / NCT06692712	

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

<p>El OMG objeto de esta solicitud consiste en un vector viral recombinante basado en virus adenoasociado de serotipo 9 (AAV9), diseñado para la transferencia génica terapéutica mediante la expresión del gen humano AP4M1. El vector es no patogénico, defectivo para replicación y carece de genes virales funcionales, lo que impide su propagación en ausencia de funciones auxiliares.</p> <p>El OMG se administra mediante inyección intratecal en un entorno clínico controlado, lo que limita de forma significativa la exposición al medio ambiente. La biodistribución del vector se restringe principalmente al sistema nervioso central, con una exposición sistémica limitada. En caso de producirse excreción, esta se considera transitoria y en forma de partículas no replicativas o ADN vectorial, sin capacidad infecciosa.</p> <p>No se espera persistencia ambiental del vector ni transferencia horizontal de material genético a otros organismos. Asimismo, el transgén no confiere ninguna ventaja selectiva que pueda favorecer la supervivencia o diseminación del OMG en el medio ambiente. La probabilidad de exposición de terceros o del entorno es muy baja, y en caso de producirse, no se prevén efectos adversos para la salud humana (excluyendo al sujeto tratado) ni para otros organismos.</p> <p>En conjunto, considerando las características del vector, su modo de administración y los datos disponibles de biodistribución y excreción, el impacto ambiental potencial asociado a la liberación del OMG en el contexto del ensayo clínico se considera despreciable o muy bajo.</p>
--

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): orden: Piccovirales, taxón: Parvoviridae
ii) Género: Dependoparvovirus
iii) Especie: virus adenoasociado (AAV)
iv) Subespecie: No aplica
v) Cepa: virus adenoasociado serotipo 9 (AAV9)
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): No aplica
vii) Nombre vulgar: No aplica

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

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

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

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

Sí

No

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

Sí

No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros, (especifíquense):

No presenta hábitat natural independiente siendo humanos y primates las especies huésped.

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

5. a) Técnicas de detección

La presencia del serotipo AAV9 se puede determinar mediante técnicas de SDS-PAGE/Western blot, así como ELISA específico de AAV9.

5. b) Técnicas de identificación

Mediante western blot se puede realizarse la identificación del serotipo AAV9 (identidad proteica).

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:

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:

Los AAV son virus dependientes, es decir, requieren la coinfección con un virus auxiliar (como adenovirus o herpesvirus) para replicarse. En ausencia de este virus auxiliar, el AAV permanece en estado latente (episomal o integrado) sin replicación activa. Por tanto, no se puede definir un tiempo de generación clásico en condiciones naturales, ya que su ciclo replicativo no ocurre de forma continua ni autónoma.

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

Al igual que en ecosistemas naturales, los AAV solo pueden replicarse en condiciones permisivas en presencia de un virus auxiliar en el ecosistema en el

que será liberado. En esa situación tendría un tiempo de generación de 24-48 horas. En ausencia de virus auxiliar, esta situación permisiva no se produce y el AAV no se replica.	
c) Modo de reproducción	Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: <p>En ecosistemas naturales, depende fundamentalmente de la presencia de virus auxiliares como adenovirus o herpesvirus, ya que en su ausencia el AAV permanece en estado latente sin replicarse. Asimismo, influyen el tipo celular y su estado fisiológico, la disponibilidad de receptores específicos para la entrada viral y las condiciones ambientales como temperatura o pH, que afectan a la estabilidad del virus. La respuesta inmunitaria del huésped también limita la persistencia y posible propagación viral.</p>	

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo	
i) endosporas	<input type="checkbox"/>
ii) quistes	<input type="checkbox"/>
iii) esclerocios	<input type="checkbox"/>
iv) esporas asexuales(hongos)	<input type="checkbox"/>
v) esporas sexuales (hongos)	<input type="checkbox"/>
vi) huevos	<input type="checkbox"/>
vii) pupas	<input type="checkbox"/>
viii) larvas	<input type="checkbox"/>
ix) otras (especifíquense)	<i>El AAV no forma estructuras que favorezcan supervivencia</i>
b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia <p>La supervivencia de los AAV está determinada por diversos factores físicos, químicos y biológicos. Entre los más relevantes se encuentran la temperatura, el pH y la radiación UV, que pueden comprometer la integridad de la cápside viral; la presencia de enzimas y otros agentes que favorecen su degradación; y la disponibilidad de células susceptibles que permitan su entrada y mantenimiento. Además, la respuesta inmunitaria del huésped contribuye de forma significativa a la eliminación de las partículas virales, limitando así su persistencia tanto en el medio ambiente como en el organismo.</p>	

10. a) Vías de diseminación

Los AAV en su estado salvaje (wild type) presentan una diseminación limitada y dependiente de la presencia de virus auxiliar, sin evidencia de patogenicidad en humanos. Se disemina principalmente vía respiratoria a través de gotículas respiratorias asociado a otros virus. Otras posibles vías de diseminación es la vía fecal-oral por contacto con material contaminado, así como vía contacto con fluidos corporales.

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La diseminación de los AAV está condicionada por múltiples factores biológicos y ambientales, en general es limitada y dependiente de condiciones específicas. Principalmente, depende de la presencia de un virus auxiliar necesario para su replicación, pero también del estado inmunológico del huésped que puede presentar anticuerpos neutralizantes frente al AAV y por la respuesta inmune celular que puede limitar esa diseminación. La vía de diseminación también afecta, siendo más eficiente por vía respiratoria, así como la carga viral inicial, suponiendo mayor probabilidad de diseminación a mayor carga viral.

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)

No se ha notificado ninguna modificación previa.

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

La modificación genética del vector consiste en la inserción del gen terapéutico humano AP4M1 optimizado (hAP4M1opt), con el objetivo de restaurar la función del complejo adaptador AP-4 en las células diana y corregir el defecto molecular subyacente en la paraplejia espástica hereditaria tipo 50 (SPG50). Este gen se expresa bajo el control de elementos reguladores que permiten una expresión eficiente y estable en las células del sistema nervioso central tras la administración del vector.

De forma paralela, se han eliminado las secuencias virales responsables de la replicación (genes rep y cap), que únicamente se aportan en trans durante el proceso de fabricación. Como consecuencia, el vector resultante es defectivo para

replicación, carece de capacidad de propagación autónoma y no puede generar nuevas partículas virales en ausencia de funciones auxiliares.

El resultado de la modificación es un vector capaz de transferir y expresar el gen terapéutico de forma controlada en el organismo tratado, sin conferir capacidad de replicación ni ventaja selectiva, limitando su actividad al contexto clínico y reduciendo su potencial impacto fuera del huésped.

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

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

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input checked="" type="checkbox"/>
bacteriófago	<input type="checkbox"/>
virus	<input type="checkbox"/>
cósmido	<input type="checkbox"/>
Elemento de transposición	<input type="checkbox"/>
Otros (especifíquense):	
b) Identidad del vector:	
- Plásmido de transferencia pSJGk-UsP-AP4M1-BGHpA: Contiene el cassette de expresión del transgén hAP4M1opt flanqueado por ITRs de AAV2.	
- Plásmido de empaquetamiento (rep/cap) pGSK2/9: Codifica las proteínas Rep y la cápside del serotipo AAV9 (Cap9), necesarias para la replicación del genoma vectorial y el ensamblaje de la partícula viral.	
- Plásmidos auxiliares (helper) pXX680/pALDX80: Proporcionan funciones derivadas de adenovirus necesarias para la producción eficiente del vector.	

c) Gama de organismos huéspedes del vector:
 Los organismos huésped implicados son bacterias, sin participación de otros sistemas biológicos. Los plásmidos utilizados se amplifican y producen en bacterias *Escherichia coli*.

d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable

Sí No

Resistencia a los antibióticos

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Se ha insertado la secuencia del gen de resistencia a kanamicina (KanR), sin embargo esta está presente únicamente en el plásmido de producción y no forman parte del genoma viral empaquetado en el vector clínico.

e) Fragmentos constituyentes del vector

Está constituido por:

Plásmido de transferencia (genómico): contiene el genoma de interés (transgén hAP4M1opt)) que será empaquetado en el AAV e incluye secuencias ITR, promotor (JeT), intrón sintético, y señal de poliadenilación (BGHpA).

Plásmido de empaquetamiento (rep/cap): gen rep para la replicación del AAV y gen cap que codifica para las proteínas de la cápside del AAV9

Plásmido auxiliar (helper): aporta funciones derivadas de virus auxiliares (adenovirus) necesarias para la producción.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): Los plásmidos (transferencia, rep/cap y helper) se introducen simultáneamente en células productoras (HEK293) mediante un proceso de transfección transitoria. Una vez dentro de las células, estos plásmidos aportan in trans los elementos necesarios para la replicación del genoma vectorial, la formación de la cápside viral y el ensamblaje de las partículas AAV, dando lugar al vector viral recombinante final que encapsida únicamente el genoma terapéutico.

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 fragmento insertado en el vector AAV9/AP4M1 corresponde al cassette de expresión terapéutico, constituido por un promotor sintético (JeT), un intrón sintético, la secuencia codificante del gen humano AP4M1 optimizado (hAP4M1opt) y una señal de poliadenilación (BGHpA). Este cassette está flanqueado por secuencias ITR de AAV2, necesarias para el empaquetamiento del genoma en la partícula viral.

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

La secuencia codificante hAP4M1opt deriva del gen humano AP4M1 (*Homo sapiens*).

Las secuencias ITR derivan del virus adenoasociado tipo 2 (AAV2).

El promotor JeT es un promotor sintético diseñado para expresión constitutiva en células de mamífero.

El intrón sintético es de origen artificial.

La señal de poliadenilación BGH (BGHpA) procede del gen de la hormona de crecimiento bovina (*Bos taurus*).

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

hAP4M1opt (gen codificante): Codifica la proteína terapéutica AP4M1, cuya expresión permite restaurar la función del complejo AP-4 en las células del sistema nervioso central.

ITR (AAV2): Permiten la replicación y el empaquetamiento del genoma vectorial en la cápside viral, siendo esenciales para la formación del vector AAV.

Promotor JeT: Dirige la transcripción del transgén, permitiendo una expresión constitutiva y controlada en las células diana.

Intrón sintético: Mejora la eficiencia de la expresión génica al favorecer el procesamiento del ARN mensajero (splicing) y aumentar la estabilidad del transcrito.

Señal de poliadenilación (BGHpA): Asegura la correcta terminación de la transcripción y la estabilidad del ARN mensajero, facilitando una expresión eficiente del transgén.

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

- en un plásmido libre

- integrado en el cromosoma

- Otros especifíquense): insertado entre las secuencias ITR del AAV.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

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

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

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

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

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

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

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

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

1. Rasgos genéticos y características fenotípicas del organismo receptor o parental que hayan sufrido algún cambio como resultado de la modificación genética

a) ¿Se diferencia el OMG del receptor en lo que a capacidad de supervivencia se refiere?		
Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese		
b) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta al modo o índice de reproducción?		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

Especifíquese:

El OMG (vector AAV9/AP4M1) se diferencia del virus receptor en que es defectivo para replicación.

A diferencia del virus AAV salvaje, que puede replicarse en presencia de un virus auxiliar, el vector recombinante carece de los genes virales esenciales para la replicación (rep y cap), por lo que no puede reproducirse ni generar nuevas partículas virales en condiciones naturales.

En consecuencia, el OMG presenta un índice de reproducción nulo fuera del sistema de fabricación, limitando su actividad al organismo tratado y reduciendo su potencial de diseminación.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

El vector AAV9/AP4M1 presenta una capacidad de diseminación significativamente reducida en comparación con el virus AAV salvaje.

Al carecer de los genes virales necesarios para la replicación (rep y cap), el vector no puede amplificarse ni propagarse entre células o individuos. Además, su administración intratecal limita la distribución principalmente al sistema nervioso central, con una diseminación sistémica baja y transitoria.

En caso de producirse, la diseminación se restringe a la presencia temporal de partículas no replicativas o ADN vectorial, sin capacidad de infección productiva. Por tanto, presenta un potencial de diseminación muy bajo en comparación con el virus parental.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

El AAV salvaje no presenta patogenicidad en humanos; sin embargo, el vector recombinante ha sido modificado para eliminar los genes virales (rep y cap), lo que lo hace defectivo para replicación y elimina cualquier potencial residual asociado a la biología viral.

Además, está diseñado exclusivamente para la expresión de un gen terapéutico humano, sin incluir factores de virulencia ni elementos que puedan inducir patogenicidad. Por tanto, no se espera que cause enfermedad ni en los sujetos tratados ni en otros individuos en caso de exposición accidental.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

Tal y como se ha descrito en el apartado A.3.c) la estabilidad genética del OMG está garantizada por el diseño del vector, que contiene únicamente el cassette de expresión del transgén flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (ITR), sin incluir genes virales implicados en la replicación o recombinación. La secuencia

del genoma vectorial ha sido confirmada mediante secuenciación (Sanger), mostrando conformidad con la secuencia de referencia, y el proceso de fabricación bajo condiciones GMP asegura la consistencia genética entre lotes. Asimismo, al no integrarse de forma activa en el genoma del huésped y permanecer predominantemente en forma episomal, el vector presenta un bajo riesgo de inestabilidad genética o de generación de variantes.

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		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: qPCR o ddPCR, dirigidas a secuencias específicas del genoma vectorial: AP4M1 e ITR.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: secuenciación Sanger

F. Información sobre la liberación

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

La liberación del OMG AAV9/AP4M1 se realiza con fines exclusivamente clínicos, en el marco del ensayo clínico. El objetivo de dicha liberación es permitir la administración intratecal del vector en pacientes con SPG50, con el fin de evaluar su eficacia, seguridad y tolerabilidad, mediante la expresión del gen terapéutico AP4M1 y la posible modificación del curso de la enfermedad.

2. ¿Es diferente el lugar de liberación del hábitat natural o del ecosistema en el que se utiliza, se mantiene o se encuentra regularmente el organismo receptor o parental?

Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo, especifíquese: se usará en entorno clínico controlado (hospitalario).	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>La liberación se realizará en el Hospital Sant Joan de Déu de Barcelona.</p> <p>Passeig Sant Joan de Déu, 2, 08950 Esplugues de Llobregat Barcelona España</p>
<p>b) Área del lugar (m²): la liberación se realizará en entorno hospitalario controlado en el seno de un ensayo clínico.</p> <p>i) lugar real de la liberación (m²): NP, no es posible definir la extensión específica.</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m²): NP, no es posible definir la extensión específica</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No se prevé el contacto con biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas dado que la administración se realizará en un ambiente controlado en entorno hospitalario. Esta administración se realizará vía intratecal únicamente en los pacientes que sean incluidos en el ensayo clínico CT-MEL-03. Dado que el vector es no replicativo, no patogénico y sin capacidad de persistencia ambiental, y que cualquier excreción potencial sería transitoria y en forma no infecciosa, la probabilidad de que el OMG alcance ecosistemas naturales o áreas protegidas es extremadamente baja.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>La liberación del OMG AAV9/AP4M1 se limita a un entorno hospitalario controlado, mediante administración intratecal en pacientes, por lo que la proximidad a flora y fauna es prácticamente inexistente. No se prevé contacto directo del vector con el medio ambiente. En el caso altamente improbable de exposición indirecta (por ejemplo, a través de fluidos biológicos), el OMG consiste en un vector no replicativo y no patogénico, sin capacidad de propagación ni de establecimiento en otros organismos. Además, el transgén no confiere ninguna ventaja selectiva ni propiedades que puedan afectar a especies</p>

vegetales o animales.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:

Los pacientes incluidos en el estudio CT-MEL-03 (pacientes pediátricos) recibirán una dosis única de 1.10^{15} vg.

b. Duración de la operación:

El tratamiento consiste en una única administración intratecal del vector AAV9/AP4M1. Posteriormente, se realizará un periodo de seguimiento de los sujetos tratados de hasta 60 meses tras la administración.

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

La administración del OMG AAV9/AP4M1 se realiza exclusivamente en un entorno hospitalario controlado, mediante inyección intratecal por personal sanitario cualificado, lo que limita de forma significativa cualquier posible liberación al medio ambiente.

Se aplican medidas estándar de bioseguridad y buenas prácticas clínicas, incluyendo:

- Preparación y manipulación del producto en condiciones controladas, utilizando técnicas asépticas.
- Administración en áreas clínicas restringidas, con acceso limitado a personal autorizado.
- Gestión adecuada de residuos biológicos, incluyendo material sanitario, conforme a la normativa aplicable, mediante eliminación como residuos biosanitarios.
- Uso de equipos de protección individual (EPI) por parte del personal sanitario durante la manipulación y administración.
- Limpieza y desinfección de superficies y materiales que puedan entrar en contacto con el producto.

Adicionalmente, dado que el vector es no replicativo y presenta una excreción limitada y transitoria, el riesgo de propagación más allá del entorno clínico es bajo. Estas medidas garantizan que la diseminación del OMG fuera del lugar de liberación sea mínima o despreciable.

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

No procede. La administración de CT-MEL-03 se realizará en entorno hospitalario controlado.

6. Datos pertinentes sobre liberaciones anteriores del mismo OMG. si los hubiera, específicamente relacionados a las repercusiones potenciales de la liberación en el medio ambiente y la salud humana

El OMG AAV9/AP4M1 (MELPIDA) ha sido previamente administrado en ensayos clínicos tempranos, incluyendo CT-MEL-01 (Fase I/II, EE. UU.) y CT-MEL-02 (Fase I, Canadá), mediante administración intratecal en entorno hospitalario controlado.

Estos estudios han incluido 6 pacientes tratados (5 en EE. UU. y 1 en Canadá) dentro de un total de 8 sujetos expuestos en el programa clínico global.

Desde el punto de vista de salud humana:

- El tratamiento ha mostrado un perfil de seguridad manejable, sin muertes ni señales de toxicidad inesperadas.
- Los eventos adversos relacionados han sido en su mayoría leves o moderados, de aparición temprana y resolución rápida (p. ej., fiebre, vómitos, neutropenia) .
- No se han identificado riesgos que limiten la continuación del desarrollo clínico, manteniéndose un balance beneficio-riesgo favorable.

En relación con el medio ambiente:

- El vector es no replicativo, lo que impide su propagación.
- La administración se realiza en condiciones clínicas controladas, sin liberación intencionada al entorno.
- No se han observado evidencias de diseminación con relevancia ambiental ni efectos sobre terceros.

Los datos de los ensayos CT-MEL-01 y CT-MEL-02 no indican riesgos significativos para la salud humana ni para el medio ambiente, considerándose la exposición ambiental despreciable y el uso del OMG seguro en el contexto clínico controlado.

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, mammalia
ii) Familia (plantas):
iii) Género: Homo
iv) Especie: Homo sapiens
v) Subespecies: NP
vi) Cepa: NP
vii) Cultivar/Línea de reproducción: NP
viii) Patovar: NP
ix) Nombre vulgar: Humano

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

<p>Tras su administración intratecal, el vector AAV9/AP4M1 se distribuye a través del líquido cefalorraquídeo y transduce células del sistema nervioso central, principalmente neuronas y células gliales. El vector penetra en las células diana mediante endocitosis mediada por la cápside AAV9 y libera su genoma en el núcleo en forma episomal.</p> <p>Una vez en el núcleo, el cassette de expresión permite la transcripción y traducción del transgén hAP4M1opt, dando lugar a la producción de la proteína AP4M1 funcional. Esta proteína se integra en el complejo adaptador AP-4, restaurando parcialmente su función en el tráfico intracelular de proteínas.</p> <p>El resultado esperado de esta interacción es la corrección del defecto molecular subyacente en la SPG50, lo que puede traducirse en una estabilización o mejora de la función neurológica. El vector no se integra de forma significativa en el genoma del huésped y no se replica, por lo que su efecto se limita a la expresión sostenida del transgén en las células transducidas.</p>

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

No se esperan otras interacciones significativas con otros organismos.
--

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: El vector AAV9/AP4M1 es un vector defectivo para la replicación por lo que no presenta ningún tipo de ventaja ni mayor carácter invasivo.		

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

No se espera que haya extensión a ningún tipo de ecosistema dado que la liberación se realiza en entorno controlado. Asimismo, cualquier liberación o excreción del vector será transitoria ya que no es replicativo y, por tanto, no persistirá en el medio ambiente.

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): NP
ii) Familia (plantas): NP
iii) Género: NP
iv) Especie: NP
v) Subespecie: NP
vi) Cepa: NP
vii) Cultivar/línea de reproducción: NP
viii) Patovar: NP
ix) Nombre vulgar: NP

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación: Es altamente improbable, ya que el vector es defectivo para replicación, se administra por vía intratecal en condiciones controladas y, en caso de excreción, esta sería limitada y en forma de partículas no replicativas o ADN vectorial. Además, el transgén humano AP4M1 no confiere ninguna ventaja selectiva ni función relevante fuera de las células humanas diana.
b) De otros organismos al OMG: No se considera probable, dado que el vector no es capaz de replicarse ni recombinarse de forma activa en ausencia de funciones auxiliares específicas. La coinfección con virus auxiliares en este contexto clínico es altamente improbable.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

En el caso altamente improbable de transferencia, no se esperan efectos adversos relevantes, ya que el transgén no codifica factores de virulencia ni elementos que puedan alterar la aptitud de otros organismos.

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

No se han realizado estudios de este tipo con AAV9/AP4M1 dado que la repercusión ecológica estimada es nula.

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

No se espera ninguna interacción significativa con procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El seguimiento del vector AAV9/AP4M1 se realiza mediante técnicas moleculares específicas, principalmente qPCR o ddPCR dirigidas a secuencias del genoma vectorial (por ejemplo, ITR o transgén), en muestras biológicas como sangre, LCR u otros fluidos.

Estas técnicas permiten detectar y, en su caso, cuantificar la presencia del ADN del OMG para evaluar su biodistribución y posible excreción (*shedding*) a lo largo del tiempo.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Se evaluará la excreción (*shedding*) durante el seguimiento de los pacientes. No se esperan riesgos en el ecosistema y de producirse se considerará insignificantes, por lo que no se ha propuesto un método de seguimiento.

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

No se espera que haya transferencia del material genético del OMG a otros organismos dada la naturaleza no replicativa ni patogénica del vector, por lo que no se han establecido métodos específicos de detección, aunque se realizará la evaluación del *shedding* del OMG.

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

Se administrará en entorno hospitalario controlado donde no se espera liberación ni diseminación, por lo que no se considera necesario establecer un área de seguimiento.

5. Duración del seguimiento

No se ha establecido un periodo específico de seguimiento del *shedding*. Sin embargo, en base a la naturaleza del vector AAV, la excreción, en caso de producirse, se espera transitoria y limitada a las primeras semanas tras la administración.

6. Frecuencia del seguimiento

La frecuencia del seguimiento del OMG se centra en las fases iniciales tras la administración, donde la monitorización es más estrecha, espaciándose posteriormente en el tiempo, en línea con la esperada presencia transitoria del vector y su limitada persistencia.

Dado que el ensayo se realiza en población pediátrica afectada por una enfermedad rara, grave e incapacitante, se ha considerado prioritario limitar las intervenciones y visitas a aquellas estrictamente necesarias para la administración del tratamiento y el seguimiento esencial. Este enfoque responde a la necesidad de minimizar la carga y los riesgos asociados a procedimientos adicionales en una población especialmente

vulnerable y de mayor riesgo, garantizando al mismo tiempo la adecuada evaluación de la seguridad y eficacia del tratamiento.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

La administración del OMG se realiza en un entorno hospitalario controlado, aplicándose procedimientos locales vigentes de limpieza y desinfección de las superficies y áreas de trabajo tras la administración específicos del centro de administración. Se utilizará un desinfectante virucida con actividad comprobada frente a AAV siguiendo recomendaciones de uso del fabricante.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El OMG no requiere tratamiento específico tras su administración, ya que permanece en el organismo tratado sin capacidad de replicación. No se producirán remanentes ni excesos del OMG ya que será administrado en su totalidad.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los únicos residuos esperables son los derivados del envase del vector (envase/vial vacío) así como del material sanitario utilizado para realizar la administración del OMG y los equipos de protección individual (EPI) utilizados por el personal sanitario.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos se eliminan como residuos biosanitarios o de riesgo biológico, siguiendo los procedimientos establecidos en el centro sanitario, que incluyen recogida en contenedores específicos y eliminación mediante métodos autorizados (incineración o tratamiento equivalente) según protocolos establecidos por el centro siempre en concordancia con la normativa vigente, garantizando la inactivación del material biológico.

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 producirse un derrame accidental del producto, las superficies afectadas se descontaminarán conforme a los procedimientos y normativas internas del centro, empleando un desinfectante con eficacia demostrada frente a AAV. El material absorbente contaminado se gestionará como residuo biosanitario y se eliminará de acuerdo con los procedimientos locales de bioseguridad, habitualmente mediante incineración en el centro clínico. En caso de contacto accidental con la piel, se procederá al lavado inmediato con abundante agua y jabón. Si el contacto se produce con ojos o mucosas, se realizará un enjuague inmediato con abundante agua o solución salina durante varios minutos. En caso de exposición accidental por

pinchazo o corte, se aplicarán los protocolos estándar del centro para exposiciones biológicas, incluyendo la limpieza de la zona afectada y la notificación al servicio de prevención correspondiente para su evaluación y seguimiento.

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

Las superficies afectadas se descontaminarán conforme a los procedimientos y normativas internas del centro, empleando un desinfectante con eficacia demostrada frente a AAV. Ver sección J.1.

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

La administración de AAV9/AP4M1 se realiza en entorno hospitalario controlado y no se espera ningún contacto con plantas ni animales. Los suelos de la zona de administración del OMG en los que se pudiese producir un derrame accidental se sanearán siguiendo los protocolos de actuación descritos en J.1. y J.2.

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

En caso de producirse un efecto no deseable asociado al OMG AAV9/AP4M1, se aplicarán de forma inmediata las medidas de control y mitigación previstas en el protocolo clínico, en el Manual del investigador (IB: *Investigator's Brochure*) y en los procedimientos internos del centro.

Desde el punto de vista de la salud humana, se realizará la evaluación clínica inmediata del paciente tratado y se instaurarán las medidas terapéuticas y de soporte que resulten necesarias. Asimismo, cualquier acontecimiento adverso o acontecimiento adverso grave será notificado y gestionado conforme a los procedimientos de farmacovigilancia del ensayo. En caso de exposición accidental de investigadores o personal sanitario implicado en la preparación, manipulación o administración del producto, se aplicarán los protocolos de bioseguridad del centro, incluyendo descontaminación inmediata, valoración médica y seguimiento cuando proceda. Además, se prevé una monitorización clínica estrecha tras la administración, incluyendo vigilancia intensiva postinfusión, controles neurológicos, monitorización cardiorrespiratoria y seguimiento analítico, así como medidas específicas para el manejo de riesgos inmunológicos e inflamatorios, entre ellas el uso de un régimen de inmunomodulación, evaluación seriada de parámetros analíticos y pruebas complementarias según evolución clínica. También se contempla que, en caso de sobredosis, el investigador contacte inmediatamente con el monitor médico, vigile estrechamente al sujeto al menos durante 12 semanas y documente el exceso de dosis en el cuaderno de recogida de datos. Se realizará un seguimiento a largo plazo de 60 meses.

En relación con la protección del medio ambiente, la contención del OMG se basa en su administración exclusiva en entorno hospitalario controlado, junto con la aplicación de procedimientos de bioseguridad para la limpieza, desinfección y eliminación de residuos. En caso de derrame o contaminación accidental, se procederá a la descontaminación de superficies con desinfectantes eficaces frente a AAV y a la eliminación del material contaminado como residuo biosanitario,

conforme a la normativa aplicable. Dado que el vector es no replicativo y de capacidad de diseminación muy limitada, no se prevén efectos ambientales relevantes; no obstante, cualquier incidente será manejado mediante medidas de contención y limpieza inmediata.