

**MODELO DE RESUMEN DE LA NOTIFICACIÓN DE LA LIBERACIÓN DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE DISTINTOS DE LAS PLANTAS SUPERIORES DE ACUERDO CON EL ARTÍCULO 11 DE LA DIRECTIVA 2001/18/CE**

**A. Información de carácter general:**

**1. Detalles de la notificación**

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/21/24
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	17 Septiembre 2021
d) Título del proyecto:	Estudio clínico DTX301-CL301, «Estudio de fase 3, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de la transferencia del gen de la ornitina transcarbamilasa (OTC) humana mediada por el virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8) en pacientes con deficiencia de OTC de comienzo tardío»
e) Período propuesto para la liberación:	Marzo 2022-Septiembre 2023

**2. Notificador**

Nombre de la institución o empresa:	Ultragenyx Pharmaceutical Inc. 60 Leveroni Ct Novato, CA 94949 EE. UU.
-------------------------------------	---

**3. Definición del OMG**

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

- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	

b) Identidad del OMG (género y especie)

Género: Dependoparvovirus

Especie: Virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8)

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

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

A tenor de estas características del AAV natural, también cabe esperar que DTX301 sea muy estable desde el punto de vista genético. La secuencia del genoma del vector DTX301 se verifica mediante secuenciación directa.

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: HR; FR; DE; IT; NL; PT, GB	

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, GB	
- Número de la notificación: ES: B/ES/16/08; GB: 45627/0002/001-0001	

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: EE. UU., Canadá - Número de la notificación: Reunión nº 146 del RAC del NIH, Protocolo No. 1604-1520; NSN-18831, Protocolo 301OTC01	

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

DTX301, el producto del estudio, es un vector de virus adenoasociado de serotipo 8 (AAV8) recombinante, autocomplementario y sin capacidad de replicación que codifica la ornitina transcarbamilasa (OTC) humana para el tratamiento de los pacientes con deficiencia de OTC.

No cabe esperar que la liberación de DTX301, tal como se describe en esta solicitud, tenga un impacto ambiental adverso, por las siguientes razones:

- Ausencia de patogenicidad del virus parental: a pesar de una seroprevalencia estimada de hasta el 80 % de algunos serotipos humanos frecuentes, no se han identificado efectos patógenos del AAV.
- OMG sin capacidad de replicación: DTX301 es un vector de AAV recombinante no infeccioso que carece de todos los genes víricos del AAV y no puede replicarse sin funciones auxiliares específicas del AAV y sin la actividad de un virus colaborador. La replicación de DTX301 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por tres virus distintos (DTX301, AAV natural y un virus colaborador, como adenovirus humano o virus del herpes simple). El riesgo de que esto ocurra es insignificante.
- Riesgo mínimo de transmisión por diseminación del virus: en teoría, DTX301 puede transmitirse a personas distintas de un sujeto de este estudio. El mecanismo principal de transferencia sería la excreción del vector. Sin embargo, el riesgo de transferencia de vectores de AAV a otras personas o animales es muy bajo. DTX301 carece de capacidad de replicación, no puede diseminarse en el medio ambiente y no es patógeno para el ser humano. Además, el tipo de células diana son los hepatocitos y se prevé que la carga vírica en la saliva, la orina y las heces sea baja, como se ha descrito en estudios clínicos anteriores.
- Riesgo mínimo de mutagénesis por inserción: el riesgo de mutagénesis por inserción se considera bajo o insignificante, ya que la inmensa mayoría del ADN del vector de AAVr persiste en forma de episoma ( $\geq 99,5$  %) en lugar de como ADN integrado.
- Expresión del transgén específica del hígado: el AAV de serotipo 8, como AAV de clado E, muestra un tropismo intenso por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. DTX301 codifica el gen OTC cuya expresión se ve estimulada por un potenciador y un promotor específicos del hígado encapsidados en un vector de AAV8, lo que limita su expresión en células no diana.
- Expresión del transgén no hepática: La expresión del transgén estará limitada

en células no diana, dado el tropismo hepático conocido del AAV de clado E.

- Riesgo mínimo asociado al transgén: el casete transgénico codifica el gen de la OTC humana. En el OMG no se han introducido genes de toxinas, posibles oncogenes, factores de crecimiento ni otros genes que podrían ser potencialmente perjudiciales.

## 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

Virus ARN

Virus ADN

Bacteria

Hongo

Animal

- mamíferos

- insectos

- peces

- otro animal

(especifique el phylum y la clase)

Otros, (especifíquense):

### 2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales):	Virus de ADN monocatenario
ii) Género:	Dependoparvovirus
iii) Especie:	Virus adenoasociado
iv) Subespecie:	No procede
v) Cepa:	Serotipo 8
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):	No procede
vii) Nombre vulgar:	No procede

### 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): En simbiosis con animales (huéspedes primates)	

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

No procede.

**5. a) Técnicas de detección**

El AAV puede detectarse mediante amplificación del ADN con métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (PCR digital en gotas [ddPCR] o PCR cuantitativa [qPCR]), utilizando cebadores específicos del genoma vírico.

**5. b) Técnicas de identificación**

El AAV puede identificarse mediante amplificación del ADN con métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (PCR digital en gotas [ddPCR] o PCR cuantitativa [qPCR]), utilizando cebadores específicos del genoma vírico y secuenciación.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

Información complementaria:

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

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?:

humanos

animales

plantas

otros

b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

## 8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus colaborador.

b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: El AAV carece de capacidad de replicación, por lo que el tiempo de generación es variable en función de la presencia o ausencia de un virus colaborador.

c) Modo de reproducción                      Sexual No procede                      Asexual No procede

d) Factores que afectan a la reproducción:

La presencia de un virus colaborador, como adenovirus o virus del herpes simple, favorece la expresión génica del AAV, la replicación del genoma y la producción de viriones. En ausencia de un virus colaborador, el AAV natural carece de capacidad de replicación. Hay que señalar que el OMG final, DTX301, no tiene capacidad de replicación ni siquiera en presencia de un virus colaborador debido a la eliminación de los genes víricos *rep* y *cap*.

## 9. Capacidad de supervivencia

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

i) endosporas

ii) quistes

iii) esclerocios

iv) esporas asexuales(hongos)

v) esporas sexuales (hongos)

vi) huevos

vii) pupas

viii) larvas

ix) otras (especifíquense): El AAV no forma estructuras de supervivencia.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia

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

10. a) Vías de diseminación

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

10. b) Factores que afectan a la diseminación

La replicación del virus parental (AAV natural) solo es posible en células huésped que hayan sido coinfectadas por un virus colaborador (p. ej., 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)

El promotor, Ultragenyx Pharmaceutical Inc., ha notificado previamente la liberación de DTX301 en España, con la notificación nº B/ES/16/08

**C. Información sobre la modificación genética**

1. Tipo de modificación genética:

- |                                      |                                     |
|--------------------------------------|-------------------------------------|
| i) Inserción de material genético    | <input checked="" type="checkbox"/> |
| ii) Eliminación de material genético | <input checked="" type="checkbox"/> |
| iii) Sustitución de una base         | <input type="checkbox"/>            |
| iv) Fusión celular                   | <input type="checkbox"/>            |
| v) Otro (especifíquese)              |                                     |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado que pretendía obtenerse con la modificación genética consistía en generar un vector de AAV recombinante que contuviera un casete de expresión de OTC humana para tratar a los pacientes con deficiencia de OTC. DTX301 codifica el gen OTC cuya expresión se ve estimulada por un potenciador y un promotor específicos del hígado encapsidados en un vector de AAV8. AAV8, como AAV de clado E, muestra un fuerte tropismo por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. Así pues, cabe esperar que la administración de DTX301 dé lugar a la expresión del gen OTC en el hígado de los sujetos del estudio. DTX301 no es patógeno. El genoma del

vector DTX301 solo podría replicarse en la circunstancia presumiblemente rara de que una sola célula sea infectada simultáneamente por DTX301, AAV natural y un virus colaborador (infección triple). Además, habría competencia entre el AAV natural y los virus rAAV por recursos replicativos celulares y víricos, lo que probablemente favorecería el ajuste evolutivo del virus natural.

**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: pDTX.hOTCco.301	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Bacterias, células de mamífero	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: Kanamicina	

e) Fragmentos constituyentes del vector

pDTX.hOTCco.301 contiene el casete de expresión de OTC. El casete de expresión consta de un promotor y un potenciador específicos del hígado, un transgén OTC con optimización codónica y una señal de poliadenilación, flanqueada por repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV. Únicamente el casete de expresión de OTC está presente en el OMG final. Además, el vector contiene un origen bacteriano de replicación y el gen que confiere resistencia a la kanamicina para permitir la propagación del plásmido en *E. coli*.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): Transfección triple de las células de acondicionamiento con pDTX.hOTCco.301 y dos plásmidos colaboradores [el plásmido colaborador de AAV que contiene los genes *rep* de AAV2 y *cap* de AAV8 naturales, el plásmido pAAV2-8.KanR (p2123-FH) y un plásmido de adenovirus colaborador pAdDeltaF6(Kan)], lo que da lugar a la producción de partículas de AAV recombinantes.

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

i) transformación

ii) microinyección

iii) macroencapsulación

iv) macroinyección

v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El fragmento de inserción consta de un promotor y un potenciador específicos del hígado, un transgén OTC con optimización codónica y una señal de poliadenilación, flanqueada por repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV.

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

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

1. Indíquese si es:

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

2. Nombre completo

i) Orden y taxón superior (animales):	Primates
ii) Familia (plantas):	No procede
iii) Género:	homo
iv) Especie:	<i>sapiens</i>
v) Subespecie:	No procede
vi) Cepa:	No procede
vii) Cultivar/línea de reproducción:	No procede
viii) Patovar:	No procede
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: N/P	

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

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

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

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

### E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

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

Especifíquese:

El genoma vírico DTX301 ha sido modificado de forma importante con respecto al virus parental para que carezca de capacidad de replicación. Los genes *rep* y *cap* del AAV se han sustituido por un casete de expresión eucariótico y únicamente se han mantenido las secuencias RTI víricas, que son secuencias de ADN no codificadoras (<300 pb). Por tanto, DTX301 no contiene genes víricos naturales.

El AAV natural requiere la presencia de un virus colaborador, como un adenovirus humano o el virus del herpes simple, para replicarse. El genoma del vector DTX301 solo podría replicarse en la circunstancia presumiblemente rara de que una sola célula sea infectada simultáneamente por DTX301, AAV natural y un virus colaborador (infección triple). Además, habría competencia entre el AAV natural y los virus rAAV por recursos replicativos celulares y víricos, lo que probablemente favorecería el ajuste evolutivo del virus natural.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

Dado que replicación de DTX301 solo podría tener lugar en el caso extraordinariamente improbable de que una célula huésped resultara infectada por tres virus distintos, la probabilidad de diseminación es menor que la del AAV natural.

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

Sí

No

No se sabe

Especifíquese:

No se conocen efectos patógenos del AAV natural en seres humanos. No cabe esperar que la introducción del casete de expresión de OTC conlleve la aparición de patogenicidad. Por tanto, ni el AAV natural ni DTX301 son patógenos ni se espera que lo sean.

## 2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El AAV es un virus ADN monocatenario que muestra un alto grado de estabilidad genética; basándose en ello, también se espera que DTX301 sea genéticamente estable. La integridad del casete de expresión de OTC se confirmará mediante secuenciación directa.

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

Sí

No

No se sabe

En caso afirmativo:

a) ¿Para cuál de los organismos siguientes?	humanos	<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>
b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A		

#### 4. Descripción de los métodos de identificación y detección

<p>a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:</p> <p>DTX301 puede detectarse mediante amplificación del ADN con métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (PCR digital en gotas [ddPCR] o PCR cuantitativa [qPCR]) con cebadores específicos del transgén.</p>
<p>b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:</p> <p>DTX301 puede identificarse mediante amplificación del ADN con métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (PCR digital en gotas [ddPCR] o PCR cuantitativa [qPCR]) con cebadores específicos del transgén.</p>

#### F. Información sobre la liberación

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

<p>DTX301-CL301 es un estudio de fase 3, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de DTX301 en pacientes de 12 años o más con déficit de OTC de inicio tardío. El objetivo principal del estudio consiste en evaluar la eficacia de DTX301 sobre la mejoría de la función de la ornitina transcarbamilasa (OTC) mediante el mantenimiento de unas concentraciones plasmáticas seguras de amoníaco.</p>
---

##### 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 type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
<p>En caso afirmativo, especifíquese:</p> <p>El hábitat natural del AAV8 natural son células huésped de primates. DTX301 se administrará a seres humanos en el contexto del estudio clínico DTX301-CL301.</p>	

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <p>Centro 1: Hospital Clínico Universitario de Santiago Travesía da Choupana s/n. 15706 Santiago de Compostela (A Coruña)</p> <p>Centro 2: Hospital Universitario Vall d'Hebron Passeig de la Vall d'Hebron, 119-129 08035 Barcelona</p>
<p>b) Área del lugar (m<sup>2</sup>):</p> <p>i) lugar real de la liberación (m<sup>2</sup>): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque DTX301 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.</p> <p>ii) área de liberación más amplia (m<sup>2</sup>): No procede. No es posible definir una extensión específica del lugar de liberación porque DTX301 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.</p>
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No procede. DTX301 se administrará en una infusión IV única en un entorno hospitalario. Por tanto, no cabe prever que entre en contacto con biotipos reconocidos ni zonas protegidas.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>La administración de DTX301 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni cultivos.</p>

#### 4. Método y amplitud de la liberación

<p>a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>La dosis se basará en el peso corporal del paciente. DTX301 se administrará en una dosis de <math>1,7 \times 10^{13}</math> copias de genoma (CG)/kg. Está previsto reclutar a 3 pacientes en España.</p>
<p>b. Duración de la operación:</p> <p>La duración del estudio para cada sujeto se define como el tiempo transcurrido entre la fecha de obtención del consentimiento informado por escrito firmado y la visita de la semana 128.</p>
<p>c. Métodos y procedimientos para evitar o reducir al mínimo la propagación de los OMG más allá del lugar de liberación:</p> <p>DTX301 será conservado, preparado y administrado por profesionales médicos</p>

cualificados, en un entorno hospitalario y únicamente a pacientes que cumplan los criterios de inclusión en el estudio clínico DTX301-CL301. El personal seguirá las normas en materia de residuos y eliminación de conformidad con las disposiciones de cada centro en cuanto a materiales biológicos peligrosos para eliminar los consumibles utilizados en la preparación y administración del OMG. Cuando así se permita, los viales usados y sin usar de DTX301 se conservarán en el centro del estudio hasta que el monitor de investigación clínica (CRA) proceda a la contabilidad de la medicación del estudio. En caso de que no se permita la destrucción en el centro, los viales sin usar se devolverán al centro de fabricación que haya distribuido el producto de acuerdo con los requisitos habituales en relación con el PEI y según se indica en el Manual de Farmacia.

DTX301 es un producto en investigación (PEI) fabricado y distribuido por una persona cualificada (PC) en Europa, para uso en ensayos clínicos tras haber cumplido las especificaciones definidas en cuanto a calidad y seguridad del producto para administración a seres humanos de acuerdo con el protocolo del estudio clínico. Además, se utiliza y está aprobado de conformidad con el protocolo del estudio clínico por las autoridades sanitarias y comités de ética del país en el que vaya a realizarse el estudio. Por este motivo, la cadena de suministro del PEI y su gestión en el centro están reguladas en el contexto de las normativas sobre ensayos clínicos, las leyes locales y las directrices aplicables en cuanto a recepción, conservación, manipulación, dispensación, contabilidad y devolución del PEI. En el Manual de Farmacia del estudio y el material de formación facilitado a los centros se proporcionan instrucciones sobre el uso, conservación y destrucción del PEI al personal de farmacia y clínico. También se incluyen instrucciones para documentar el control del PEI desde el momento de su recepción en el centro del ensayo hasta el recuento final y su destrucción o devolución. Además, se describen los procesos necesarios para gestionar y documentar las desviaciones, como las desviaciones de la temperatura, y personal cualificado en el envío de medicamentos trasladará a los centros las reclamaciones técnicas notificadas para el producto. Los riesgos relacionados con la liberación al medio ambiente del OMG y los riesgos para el personal, en caso de que se produzca una alteración de la integridad del envase o la conservación o un vertido accidental en el centro o durante el transporte o conservación, se consideran insignificantes. El OMG será manipulado exclusivamente por el personal cualificado designado y, en caso de que se produzca un vertido, el producto no es patógeno y carece de capacidad de replicación, lo que limita la dispersión y los riesgos para el medio ambiente o el personal.

Aunque el riesgo de transmisión vertical del vector AAV es bajo y en un estudio preclínico reciente se demostró la ausencia de transmisión en la línea germinal, los participantes sexualmente activos deberán utilizar un método anticonceptivo eficaz durante 64 semanas después de la administración de DTX301; debido al diseño doble ciego y controlado con placebo del estudio, todos los participantes en este estudio deberán utilizar métodos anticonceptivos adecuados hasta la visita de la semana 128.

Los pacientes recibirán DTX301 mediante una infusión IV única en un entorno clínico y solo serán dados de alta 24 horas después de la administración de DTX301, lo que limita la probabilidad de exposición de familiares. Dado que DTX301 carece de capacidad de replicación, las partículas víricas diseminadas no pueden

multiplicarse; por consiguiente, la dispersión del OMG se encuentra limitada de manera inherente.

A tenor de los resultados de excreción del vector sistemáticamente bajos y, en general, de un período breve de copias detectables demostrados en el estudio de fase 1/2 de DTX301, respaldados por patrones similares de excreción de DTX401 (terapia génica con AAV8 para la glucogenosis Ia (GSDIa)), no está prevista una recopilación continua de datos de excreción del vector para futuros estudios. El vector de virus adenoasociado (AAV) no se integra en el ADN y no se replica por sí mismo; también se desconoce que cause infección en los seres humanos. Por consiguiente, se considera que la excreción del vector de AAV entraña un riesgo insignificante para el medio ambiente y otras personas que entran en contacto con sujetos tratados con DTX301.

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

No procede. La administración de DTX301 se realizará exclusivamente en un entorno clínico 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**

DTX301 se ha liberado en el medio ambiente con anterioridad. El genoma viral de DTX301 se ha modificado significativamente respecto al virus parental haciendo que carezca de capacidad de replicación. DTX301 es incapaz de diseminarse en el medioambiente y no es patógeno en humanos; y solo podría replicarse en la circunstancia presumiblemente rara de que una sola célula sea infectada simultáneamente por DTX301, AAV natural y un virus colaborador (infección triple).

**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):	No procede
iii)	Género:	homo
iv)	Especie:	<i>sapiens</i>
v)	Subespecies:	No procede
vi)	Cepa:	No procede
vii)	Cultivar/Línea de reproducción:	No procede
viii)	Patovar:	No procede
ix)	Nombre vulgar:	Ser humano

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

DTX301 codifica el gen OTC cuya expresión se ve estimulada por un potenciador y un promotor específicos del hígado encapsidados en un vector de AAV8. AAV8, como AAV de clado E, muestra un fuerte tropismo por el hígado y produce una transducción hepática sumamente eficiente cuando se administra por vía intravenosa. Así pues, cabe esperar que la administración de DTX301 dé lugar a la expresión del gen OTC en el hígado de los sujetos del estudio. Cabe esperar que la transferencia del gen de la OTC resulte eficaz para tratar la deficiencia de OTC, dado que dicha enfermedad está causada por mutaciones en este gen que afectan a la expresión o actividad de la proteína OTC.

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

No se expondrá a personas distintas de los sujetos tratados con el medicamento a concentraciones de DTX301 que puedan representar un posible riesgo. Los posibles riesgos de exposición a DTX301 están basados en la administración sistémica de DTX301. Una exposición mínima, como la exposición ambiental, de organismos distintos de los sujetos que reciban DTX301 como parte del estudio no constituiría una dosis suficiente para representar una expresión génica significativa ni posibles riesgos de seguridad para los seres humanos. Dado que DTX301 también carece de capacidad de replicación, cabe esperar una eliminación rápida del vector de cualquier organismo que no sea objeto de la investigación sin causar ningún efecto perjudicial. Además, la expresión del transgén se ha diseñado para que tenga lugar en los hepatocitos. Aparte de los posibles huéspedes humanos, no cabe esperar que

la exposición a DTX301 afecte a organismos que no sean objeto de la investigación, ya sea de manera directa o indirecta.

4. ¿Es probable que se dé una selección posterior a la liberación del OMG como, por ejemplo, una competencia mayor un carácter más invasivo, etc.?

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
Especifíquese: Dado que DTX301 es incapaz de replicarse, no puede producirse selección posterior a la liberación.		

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

Dado que DTX301 es incapaz de replicarse, no cabe esperar que se disemine al ambiente en un grado significativo ni que se establezca en ningún ecosistema.

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

i) Orden y taxón superior (animales):	No procede
ii) Familia (plantas):	No procede
iii) Género:	No procede
iv) Especie:	No procede
v) Subespecie:	No procede
vi) Cepa:	No procede
vii) Cultivar/línea de reproducción:	No procede
viii) Patovar	No procede
ix) Nombre vulgar:	No procede

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:  
Cabe esperar que el genoma vírico DTX301 se transfiera a los hepatocitos presentes en el hígado de los pacientes incluidos en el estudio DTX301-CL301. Cabe prever que la inmensa mayoría de los genomas de vector DTX301 presentes en el interior de las células de los sujetos sean episómicos, en lugar de quedar integrados en el ADN de las células huésped. Dado que DTX301 carece de capacidad de replicación, y únicamente cabe prever que se disemine a los líquidos corporales de los sujetos del estudio en un grado limitado, se considera improbable la transmisión y transferencia génica a organismos distintos de los sujetos del estudio.

b) De otros organismos al OMG:

La eliminación del 94% del ADN vírico disminuye la probabilidad de recombinación homóloga con virus relacionados que podría dar lugar a variantes del OMG.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:

Aunque la recombinación entre DTX301 y un AAV natural para generar un genoma de vector híbrido que contenga el casete de expresión de OTC y los genes *rep* y *cap* de AAV sigue siendo una posibilidad teórica, una molécula de este tipo, aunque se generara en una célula, no podría replicarse a menos que también hubiera presencia de un adenovirus o virus herpes colaborador. Por otro lado, este genoma híbrido sería demasiado grande para acondicionar el ADN híbrido en una partícula de AAV. Se sabe que el AAV posee un límite de acondicionamiento de unas 5 kb (Wu 2010) y sería previsible que una molécula híbrida que contuviera los genes *rep-cap* más el casete de expresión de OTC superara este límite. Por tal motivo, los riesgos asociados a la transferencia génica del AAV natural a DTX301 se consideran insignificantes.

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

No se han realizado estudios de este tipo con DTX301.

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

No se conoce ni cabe prever que DTX301 pueda influir en procesos biogeoquímicos.

## **H. Información sobre el seguimiento**

### **1. Métodos de seguimiento de los OMG**

Los métodos para controlar los efectos de DTX301 consisten en evaluaciones de la seguridad y eficacia.

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

No procede; DTX301 es un vector de AAV sin capacidad de replicación, por lo que el riesgo de transmisión vertical es insignificante.

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

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

### **4. Tamaño del área de seguimiento (m2)**

No procede; DTX301 es un vector de AAV sin capacidad de replicación, por lo que el riesgo de transmisión vertical es insignificante.

### **5. Duración del seguimiento**

No procede; DTX301 es un vector de AAV sin capacidad de replicación, por lo que el riesgo de transmisión vertical es insignificante.

### **6. Frecuencia del seguimiento**

No procede; DTX301 es un vector de AAV sin capacidad de replicación, por lo que el riesgo de transmisión vertical es insignificante.

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

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

Todas las superficies contaminadas con DTX301 se desinfectarán utilizando un desinfectante eficaz contra AAV; por ejemplo, hipoclorito sódico al 1 %, glutaraldehído al 2 % o dodecilsulfato sódico al 0,25 %. Se podrán utilizar otros desinfectantes equivalentes que estén disponibles en el centro de investigación si son eficaces contra AAV.

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

Todos los materiales desechables que entren en contacto con el producto en investigación deberán desecharse como materiales biológicos peligrosos de conformidad con las prácticas y procedimientos de cada centro en materia de

eliminación y descontaminación de residuos biológicos peligrosos. En general, los materiales desechables se desecharán en recipientes para objetos punzantes o bolsas para materiales biológicos peligrosos y se descontaminarán mediante autoclave, incineración o ambos. El material no desechable se descontaminará con arreglo a las prácticas y procedimientos del centro, por ejemplo, mediante tratamiento con un desinfectante adecuado (como hipoclorito sódico al 1 %, glutaraldehído al 2 % o dodecilsulfato sódico al 0,25 %) o con autoclave.

Cuando así se permita, los viales usados y sin usar de DTX301 se conservarán en el centro del estudio hasta que el monitor de investigación clínica proceda a la contabilidad de la medicación del estudio. En caso de que no se permita la destrucción en el centro, los viales sin usar se devolverán al centro de fabricación que haya distribuido el producto de acuerdo con los requisitos habituales en relación con el PEI y según se indica en el Manual de Farmacia.

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

Se prevén los siguientes tipos de residuos:

- Viales de vidrio que contienen DTX301. El número de viales de DTX301 necesarios por paciente dependerá de la cohorte de dosis y del peso corporal del paciente.
- Materiales utilizados en la preparación y administración del fármaco del estudio, por ejemplo, bolsa de solución salina, sistema de administración IV, jeringas y agujas.
- Equipo de protección personal, por ejemplo, guantes.

### 3. (b) Tratamiento de residuos

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

## J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

En caso de que se libere accidentalmente el contenido de un vial de DTX301 o del producto para infusión diluido y que entre en contacto con materiales de transporte o superficies de la farmacia u hospital, el vertido deberá descontaminarse con un desinfectante apropiado, como hipoclorito sódico al 1 %, glutaraldehído al 2 % o dodecilsulfato sódico al 0,25 %. Se podrán utilizar otros desinfectantes equivalentes que estén disponibles en el centro de investigación si son eficaces contra AAV.

DTX301 se conserva en viales de vidrio. Se advertirá al personal de que tenga precaución al manipular los viales y de que reduzca al mínimo el uso de agujas. En caso de lesión, el personal seguirá los procedimientos de cada centro.

En caso de contacto accidental de DTX301 con la piel, los ojos o la ropa, el personal seguirá los procedimientos del centro en cuanto al tratamiento de materiales biológicos peligrosos.

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

Toda superficie expuesta al OMG se desinfectará con un desinfectante adecuado, según se indica en el apartado J.1 y el vertido se eliminará de conformidad con las leyes locales y las prácticas y procedimientos del centro.

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

La administración de DTX301 tendrá lugar únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no cabe prever que entre en contacto con flora, fauna ni el suelo. Además, DTX301 no es capaz de infectar a plantas ni microbios.

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

El personal respetará la legislación local y los procedimientos del centro en materia de manipulación y eliminación de organismos modificados genéticamente. Además, se facilitan recomendaciones de seguridad y orientación sobre el tratamiento de los incidentes relacionados con DTX301 en las instrucciones de seguridad para los investigadores y el personal adjuntas. Se vigilará estrechamente a todos los pacientes para detectar las reacciones adversas que puedan producirse durante este estudio. Un comité de vigilancia de los datos (CVD) independiente se encargará de controlar los datos de seguridad de este estudio. El CVD podrá recomendar, en cualquier momento, que se modifique o interrumpa el estudio prematuramente por problemas de seguridad basándose en los análisis de los datos.