

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/23/01
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación: 12 Enero 2023
d) Título del proyecto: Estudio abierto de liberación génica sistémica para evaluar la seguridad, la tolerabilidad y la expresión de SRP-9001 en asociación con imlifidasa en sujetos con distrofia muscular de Duchenne con anticuerpos preexistentes contra rAAVrh74
e) Período propuesto para la liberación: Inicio (España): Mayo 2023; Fin (España): Abril 2026

2. Notificador

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

3. Definición del OMG

a) Indíquese si el OMG es:	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- 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 (VAA), serotipo rh74 (vector vírico incapaz de replicarse que contiene ADNc *hMicro-Dys* humano)

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

El VAA es un virus de ADN monocatenario que manifiesta una gran estabilidad genética, demostrada por el alto grado de conservación de la secuencia de los genes *rep* y *cap* de múltiples genotipos y serotipos de VAA. Se espera que la estabilidad genética de SRP-9001 sea equivalente a la del VAA de tipo silvestre (wild type). También se sabe que el ADN del VAA de tipo silvestre, así como el de los vectores basados en VAA, persiste en células transducidas como concatémicos episómicos circulares (extracromosómicos) en tejidos humanos (Chen, 2005, Penaud-Budloo, 2018 y Schnepf, 2005). Sin embargo, debido a la falta de genes Rep y Cap víricos, se espera que SRP-9001 permanezca en las células como episomas y que no se replicará y producirá partículas víricas. El casete de expresión se transcribirá y traducirá por las enzimas de la célula huésped, lo que ocasionará la expresión de microdistrofina. La estabilidad de SRP-9001 se considera comparable a la del VAA de tipo silvestre.

Existe la posibilidad de una recombinación genómica homóloga espontánea en la naturaleza entre los genomas víricos de las cepas de VAA si el organismo huésped resulta infectado simultáneamente por dos cepas diferentes de VAA y un virus auxiliar.

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: <i>BE</i> <i>DE</i> <i>FR</i> <i>IT</i> <i>SE</i>	

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: BE; ES; DE - Número de la notificación: estudio SRP-9001-301: BE (B/BE/21/BVW5); ES (B/ES/21/25); DE (B/DE/22/PEI4693) estudio SRP-9001-303: ES (B/ES/22/17); DE (B/DE/22/PEI5013)	

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: Estados Unidos; Reino Unido - Número de la notificación: IND 017763; CTA 43810/0008/001-0001	

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

SRP-9001 es un vector VAA incapaz de replicarse que contiene el gen de micro-distrofina para el tratamiento de pacientes con distrofia muscular de Duchenne. No se prevé que SRP-9001 ejerza un impacto medioambiental, por distintos motivos expuestos a continuación.

Patología

Los virus adeno-asociados (VAA) son virus de ADN monocatenario que no se ha observado que provoquen patologías en el ser humano. Las modificaciones que han inducido la generación de SRP-9001 no han aumentado la patogenicidad.

Productividad de sustancias nocivas

El virus recombinante expresa la proteína micro-distrofina y no produce sustancias nocivas. No se han insertado en el OMG genes para oncogenes, toxinas o genes potencialmente nocivos.

Propiedad de transmisión del ácido nucleico horizontalmente

El VAA recombinante utilizado para la administración del transgén ha mostrado liberar un porcentaje muy pequeño del número total de genomas virales inyectados en la población de pacientes en una matriz de fluidos (sangre completa, suero, orina, saliva), y se considera que su capacidad de transferir el ácido nucleico horizontalmente es sustancialmente menor que la del VAA de tipo silvestre, que es la especie taxonómica a la que pertenece el organismo alterado. Además, no se prevén exposiciones a organismo no diana o exposiciones medioambientales. Como resultado, no cabría esperar la transferencia horizontal de ADN desde SRP-9001.

Incompetencia para la replicación y mutagénesis por inserción

SRP-9001 no contiene secuencias de codificación vírica, excepto por las repeticiones terminales invertidas (RTI), y no expresa proteínas Rep, que desempeñan un papel fundamental, no solo para la replicación del ADN, sino también para la integración específica del sitio y los efectos inhibidores del crecimiento celular. Los productos recombinantes para genoterapia humana se utilizan para suministrar (y, en última instancia, expresar) un «transgén» terapéutico en células somáticas con el fin de tratar enfermedades genéticas hereditarias. Las células somáticas contribuyen a los diversos tejidos del organismo, pero no a la estirpe germinal. Los efectos de los cambios realizados en las células somáticas se limitan a la persona tratada y no los heredarían las generaciones futuras.

La tumorigenicidad debida a mutagénesis por inserción es una inquietud teórica para cualquier vector de genoterapia. Por lo general, se supone que las secuencias de RTI víricas pueden tener una estructura con posibilidad de recombinación incluso en ausencia de proteínas Rep. Aunque la integración de secuencias del vector en el genoma celular parece ocurrir en el ratón preferentemente en regiones de transcripción activa, no se ha observado formación tumoral después del tratamiento

mediado por VAAr en primates no humanos, perros, ratas o ningún paciente en los ensayos clínicos hasta la fecha, incluso después de un seguimiento a largo plazo (Colella, 2018).

Inmunogenicidad

Los sujetos inscritos en este estudio recibirán una o dos dosis de imlifidasa antes de la administración de SRP-9001.

La imlifidasa es una endopeptidasa de IgG y se usa en este estudio para la eliminación temporal de anticuerpos preexistentes contra la cápside del virus que de lo contrario limitarían la eficacia de la administración y la transducción. Al cabo de unas horas tras la administración, la fracción de IgG se escinde y da lugar a fragmentos F(ab')₂ y Fc, lo que crea un margen de tiempo para la administración del tratamiento génico. Estudios recientes sugieren que el acondicionamiento previo con una enzima de degradación de IgG representa una oportunidad de tratamiento única para pacientes excluidos de participar en ensayos clínicos con tratamientos génicos principalmente a causa de cantidades elevadas de anticuerpos circulantes contra VAA (Ros-Ganan 2022, Elmore 2020). Se supervisará a los sujetos del estudio para detectar posibles respuestas inmunitarias y se los tratará con corticosteroides profilácticos durante las primeras semanas tras iniciar el tratamiento, cuando el riesgo de una respuesta inmunitaria es mayor.

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

3. Distribución geográfica del organismo

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

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:
Agua <input type="checkbox"/>

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

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

5. a) Técnicas de detección

Pruebas serológicas.

5. b) Técnicas de identificación

Anticuerpos específicos por serotipo y secuenciación de ADN.

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

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

En caso afirmativo, especifíquese:
 El VAA de tipo silvestre no es patógeno y no está clasificado en los grupos de riesgo 2, 3 o 4 en la Unión Europea (UE) de conformidad con la Directiva 2000/54/CE sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo (Anexo III). Se designa de forma más adecuada como un agente biológico del grupo de riesgo 1, definido en la UE como «un agente biológico que resulta poco probable que cause enfermedad en el hombre».

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

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

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 11 del anexo III A de la Directiva 2001/18/CE.

No aplica

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

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

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

El VAAr no es capaz de replicarse sin coinfección con un virus auxiliar como un adenovirus; por consiguiente, el tiempo de generación puede variar en función de la presencia o ausencia de un virus auxiliar.

c) Modo de reproducción

Sexual

Asexual

d) Factores que afectan a la reproducción:

La presencia de un virus auxiliar, como un adenovirus o el virus del herpes simple, promueve la expresión de los genes del VAA, la replicación del genoma y la producción de partículas víricas. A falta de un virus auxiliar, el VAA de tipo silvestre es incapaz de replicarse. Téngase en cuenta que el OMG, SRP-9001, es incapaz de replicarse incluso con la presencia de un virus auxiliar a causa de 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 VAA no forma estructuras de supervivencia.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia:

Las partículas de VAA son estables fuera de los organismos huésped durante varias semanas en condiciones ambientales normales en un amplio intervalo de pH y temperatura. Debido a la alta estabilidad de la cápside, el VAA puede seguir siendo infeccioso por lo menos durante un mes a temperatura ambiente (Tenenbaum, 2003). El VAA no forma estructuras de supervivencia. Sin embargo, igual que con todos los virus, la replicación no puede producirse fuera de las células huésped. Para garantizar la seguridad se deben emplear procedimientos adecuados de descontaminación, como lejía al 10 %, detergentes iónicos o soluciones alcalinas (pH >9,5) (Howard, 2017).

10. a) Vías de diseminación

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

10. b) Factores que afectan a la diseminación

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

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

Ninguna

C. Información sobre la modificación genética

1. Tipo de modificación genética:

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

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

El resultado planeado de la modificación genética era generar un vector VAA recombinante sin genes víricos y, por consiguiente, incapaz de replicarse y que tuviera la capacidad de encapsidar la secuencia del transgén que codifica la microdistrofina. Después de la administración de SRP-9001, el vector se transloca al núcleo y se convierte en ADN bicatenario y existe independientemente del cromosoma. La persistencia de la expresión génica es muy alta en las células no mitóticas. El objetivo del tratamiento con SRP-9001 es aumentar el nivel de expresión de la proteína microdistrofina en el músculo esquelético y cardíaco en pacientes con distrofia muscular de Duchenne para aumentar su resistencia y protegerlo de lesiones inducidas por la contracción. En los estudios clínicos

realizados para evaluar la seguridad y la eficacia de SRP-9001, este parece mostrar un perfil de seguridad favorable y ser generalmente bien tolerado.

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

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

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

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

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

a) Tipo de vector	
plásmido	<input 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 que contiene el genoma del vector (VAA.Micro-Dys)	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Células (bacterianas) de <i>E. coli</i> .	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense)	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta:	
Los genes de resistencia a los antibióticos solo están presentes en el plásmido. El vector vírico SRP-9001 no contiene ningún gen de resistencia a los antibióticos.	

e) Fragmentos constituyentes del vector

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

1. Plásmido vector de VAA; gen de interés; pAAV.MHCK7. Micro-Dystrophin; plásmido vector que codifica una proteína microdistrofina humana de 138 kDa y elementos reguladores flanqueados por repeticiones terminales invertidas (RTI) derivadas de VAA2.
2. Plásmido auxiliar de VAA; pNLREP2-Caprh74; plásmido de encapsidación que contiene el gen *rep* del VAA para codificar proteínas no estructurales y el gen *cap* para codificar proteínas estructurales.
3. Plásmido auxiliar de Ad; pHELP; plásmido auxiliar de adenovirus que codifica los ARN de los genes de tipo 2 *E2A*, *E4* y *VA* necesarios para la replicación de VAA en células HEK 293

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

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

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

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

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

El genoma del vector VAA recombinante encapsulado contiene un promotor MHCK7, el transgén de la microdistrofina y una señal poliadenilación flanqueados por repeticiones terminales invertidas del VAA (RTIs).

<p>b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción:</p> <p>Promotor MHCK7: <i>Mus musculus</i>, modificado y sintetizado químicamente Transgén de microdistrofina: <i>Homo sapiens</i>, codón humano optimizado y sintetizado químicamente Señal de poliadenilación: PolyA de síntesis Repeticiones terminales invertidas del VAA (RTIs): VAA2 de tipo silvestre</p>
<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>Promotor MHCK7: Dirige la expresión génica específica esquelética y cardíaca Transgén de microdistrofina: Codifica las partes del gen de la distrofina que son críticas para la función muscular Señal de poliadenilación (PolyA): Especifica la terminación transcripcional y es también de importancia para la estabilidad del ARNm y su exportación nuclear. Repeticiones terminales invertidas del VAA (RTIs): Funciones como el origen de la replicación del ADN del vector y la señal de encapsulación del genoma del VAAr, cuando las funciones del adenovirus auxiliar se proporcionan en trans.</p>
<p>d) Localización del fragmento de inserción en el organismo receptor:</p> <p>- en un plásmido libre <input type="checkbox"/></p> <p>- integrado en el cromosoma <input type="checkbox"/></p> <p>- Otros especifíquense):</p> <p>Se presenta la estructura del transgén (hMicro-Dys) que incluye las RTI. El vector se localiza en forma de concatémeros episómicos como cuerpos extracromosómicos.</p>
<p>e) ¿Contiene el fragmento de inserción partes cuyo producto o función no se conozcan?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>En caso afirmativo, especifíquese:</p>

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>

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

2. Nombre completo

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

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

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

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

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

5. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural? **No procede**

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

E. Información sobre el organismo modificado genéticamente

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

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

Especifíquese:

No se conocen efectos patogénicos del VAA de tipo silvestre en humanos. La introducción del casete de expresión, que codifica la microdistrofina, no se espera que dé lugar a la presencia de patogenicidad. Se espera que la eliminación de los genes víricos durante la formación del vector reduzca todavía más el riesgo de patogenicidad.

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

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

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

Sí <input type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>
En caso afirmativo:		
a) ¿Para cuál de los organismos humanos siguientes?		<input type="checkbox"/>
	animales	<input type="checkbox"/>
	plantas	<input type="checkbox"/>
	otros	<input type="checkbox"/>

- b) Aporte la información pertinente especificada en la letra d) del punto 11 de la letra A de la sección II y en el inciso i) del punto 2 de la letra C de la sección II del anexo III A

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

El vector recombinante SRP-9001 que contiene el gen DMD podría interactuar con otros virus con los que los pacientes entren en contacto y provocar viremia. Este improbable supuesto se ha estudiado en cultivos celulares (Favre et al., 2001). Sin embargo, los experimentos de rescate in vivo no han demostrado rescate y replicación, excepto en un caso en el que se administraron dosis muy altas de VAA de tipo silvestre y adenovirus en un entorno concreto (Afione et al., 1996). Por lo tanto, el riesgo de infección por la interacción del VAA rh74 con otros virus parece ser mínimo en el contexto de este ensayo clínico de fase III, con respecto a la exclusión de la presencia a gran escala de elementos interferentes adicionales, como VAA de tipo silvestre y adenovirus.

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

En el análisis de la excreción vírica de SRP-9001 se hallaron los niveles máximos el día 2, tanto en animales con C57BL/6J como en animales con DMD^{MDX} en ambos niveles de dosis. Los niveles de SRP-9001 descendieron progresivamente según transcurría el tiempo desde la administración. El vector se elimina del organismo principalmente por la orina y las heces, encontrándose en plasma por debajo del límite de cuantificación el día 44 después de la infusión. En este momento no se conocen los riesgos asociados al vector excretado; sin embargo, son poco probables, ya que el vector no es infeccioso y no se puede replicar. No obstante, se deben dar instrucciones a los familiares y a los cuidadores de los pacientes sobre el uso de guantes protectores si entran en contacto directo con líquidos corporales y/o desechos de los pacientes, así como en cuanto a una buena higiene de manos, durante unas semanas después de la inyección. Además, se prohíbe a los pacientes donar sangre durante los dos años siguientes a la inyección del vector. Véanse también los resultados del estudio de excreción y biodistribución de virus descritos en la sección A de Información General, en respuesta a la pregunta 7 anterior.

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG:

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

b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG:

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

F. Información sobre la liberación

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

SRP-9001 se utiliza para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. No se espera ningún beneficio ambiental potencial.

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese: SRP-9001 se administra por vía intravenosa a pacientes con distrofia muscular de Duchenne.

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

a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda): La idoneidad del paciente se determinará basándose en el análisis genético del gen DMD. Se identificarán centros de tratamiento especializados para administrar SRP-9001 a sujetos pediátricos. En este estudio participará el siguiente centro: Hospital Sant Joan de Deu en Esplugues de Llobregat (Barcelona)

b) Área del lugar (m²):

No procede. No se puede definir el tamaño específico del lugar de la liberación, ya que SRP-9001 se administrará a pacientes como parte de un ensayo clínico.

i) lugar real de la liberación (m²):

ii) área de liberación más amplia (m²):

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

No procede. SRP-9001 se administrará mediante una infusión intravenosa única en el hospital. Por consiguiente, no se prevé que entre en contacto con ningún biotopo o área protegida.

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

La administración de SRP-9001 se producirá únicamente en un entorno hospitalario controlado; por consiguiente, no se prevé que entre en contacto con plantas, animales o tierra.

4. Método y amplitud de la liberación

a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse: SRP-9001 se administrará a los pacientes con una dosis única de $1,33 \times 10^{14}$ gv/kg para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. En este estudio clínico se administrará SRP-9001 a unos 6 pacientes, aproximadamente. La cantidad que se liberará al medio ambiente por excreción serán una proporción muy pequeña del número total de genomas víricos. SRP-9001 se puede detectar mediante RCPc/ddPCR en las muestras excretadas desde el día 1 posterior a la inyección.

b. Duración de la operación: Se prevé que el procedimiento de administración, incluida la preparación del sistema de infusión, lleve unas 2 horas.

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

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

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

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

- Guantes (valoren la posibilidad de usar guantes dobles)
- Gafas de seguridad
- Bata de laboratorio
- También se debe utilizar el EPI adecuado para los antebrazos, como manguitos
- No deberá participar personal con heridas o rasguños cutáneos.

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

SRP-9001 se administrará a los pacientes con una dosis única de $1,33 \times 10^{14}$ gv/kg para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. Se reclutará a unos 6 pacientes para este estudio clínico.

Los viales de SRP-9001 se enviarán congelados y se conservarán a ≤ -60 °C antes de su administración. SRP-9001 se retirará de su almacenamiento a ≤ -60 °C solo cuando esté listo para utilizarse. Los viales se descongelan en la farmacia del hospital (con un ambiente controlado) antes de la administración. Tras retirar el volumen de la dosis en la jeringuilla, la dosis debe administrarse en un plazo de 12

horas a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Dentro de este periodo de almacenaje de 12 horas, la solución de la dosis puede mantenerse temporalmente a una temperatura de entre 9 y 25 °C durante un máximo de 4 horas.

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

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

G. Interacciones del OMG con el medio ambiente y repercusiones potenciales sobre este, si es apreciablemente diferente del organismo receptor o parental

1. Nombre del organismo diana (si procede)

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

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

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

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

Ninguna

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

Sí	No <input checked="" type="checkbox"/>	No se sabe
Especifíquese: Dado que SRP-9001 es incapaz de replicarse, no se espera un aumento de la competitividad ni de la invasividad		

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

Teóricamente, SRP-9001 no puede infectar a otras células de mamíferos en el ecosistema porque es incapaz de replicarse.

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

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

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

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Expresión de la proteína microdistrofina humana (hMicro-Dys).

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

No hay referencias bibliográficas disponibles.

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

No se dispone de interacciones ambientales con procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

RCPc/ddPCR

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

Ninguno.

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

La transferencia de material genético de SRP-9001 a otros organismos es insignificante. Se puede utilizar RCPc/ddPCR para detectar el material genético.

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede.

5. Duración del seguimiento

No procede.

6. Frecuencia del seguimiento

No procede.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Tras la administración de SRP-9001 a los pacientes, la sala de intervención se desinfectará según el Manual de la Farmacia y las normas habituales de la institución.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

Todos los viales abiertos o el material no utilizado se sellarán en contenedores estancos. Los viales vacíos y los utilizados, así como los componentes del sistema de administración que hayan estado en contacto con el producto (cánula, agujas y jeringas de inyección), gasas, equipo protector personal y materiales utilizados para la recogida de muestras de líquidos corporales después de la administración se desinfectarán o incinerarán de acuerdo con las normas de tratamiento de residuos médicos del usuario final.

3. a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Tras la administración de SRP-9001 se generan los siguientes residuos: viales vacíos, viales utilizados, tubo guía, cánula, agujas y jeringas de inyección, gasas, guantes y materiales utilizados para la recogida de muestras de líquidos corporales.

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los viales abiertos o el material no utilizado se sellarán en contenedores estancos. Los viales vacíos y los utilizados, así como los componentes del sistema de administración que hayan estado en contacto (cánula, agujas y jeringas de inyección), gasas, equipo protector personal y materiales utilizados para la recogida de muestras de líquidos corporales después de la administración se desinfectarán o incinerarán de acuerdo con las normas de tratamiento de residuos médicos del usuario final.

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

J. Información sobre planes de actuación en caso de emergencia

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

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

- Evacuen el área, retiren el EPI contaminado y dejen que los agentes reposen durante un mínimo de 30 minutos. Inicien el procedimiento de respuesta a vertidos.
- Cubran el vertido con material absorbente, empezando por los bordes y siguiendo hacia el centro.
- Viertan con cuidado desinfectante (solución de lejía recién preparada al 10%, seguida de toallitas con alcohol) sobre el vertido absorbido, empezando de nuevo por los bordes. Saturen el área con desinfectante.

- Dejen suficiente tiempo de contacto para desactivar el material del vertido. Los vertidos no viscosos requieren 15-20 minutos; los vertidos viscosos requieren 30 minutos.
- Utilicen toallas de papel para limpiar el vertido, actuando desde el borde hasta el centro. Utilicen tenazas o pinzas para recoger plásticos o vidrio rotos, u otros objetos punzantes que puedan perforar los guantes.
- Desechen el material absorbente en bolsas de residuos biológicos.
- Limpie el área del vertido con toallas de papel limpias empapadas en desinfectante. Humedezcan a fondo el área del vertido, dejen que se desinfecte durante 15-20 minutos más y limpie con toallas.
- Desechen todos los materiales de limpieza (empapados con desinfectante) en una bolsa/contenedor de productos químicos, y cualquier EPI contaminado, en una bolsa de riesgo biológico. Cierren y aseguren las bolsas.
- Coloquen la bolsa en una segunda bolsa de peligro biológico, asegúrenla y deséchela según las directrices de la institución para residuos biológicos peligrosos.

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

Todos los materiales utilizados en la limpieza se desecharán como residuos clínicos y se incinerarán.

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

No procede.

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

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

Referencias

Afione SA, Conrad CK, Kearns WG, Chunduru S, Adams R, Reynolds TC, Guggino WB, Cutting GR, Carter BJ, Flotte TR. In vivo model of adeno-associated virus vector persistence and rescue. *J Virol*. 1996 May;70(5):3235-41. doi: 10.1128/JVI.70.5.3235-3241.1996. PMID: 8627804; PMCID: PMC190187.

Chen YW, Nagaraju K, Bakay M, McIntyre O, Rawat R, Shi R, Hoffman EP. Early onset of inflammation and later involvement of TGFbeta in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*. 2005 Sep 27;65(6):826-34. doi: 10.1212/01.wnl.0000173836.09176.c4. Epub 2005 Aug 10. PMID: 16093456.

Colella P, Ronzitti G, Mingozzi F. Emerging Issues in AAV-Mediated In Vivo Gene Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2017 Dec 1;8:87-104. doi: 10.1016/j.omtm.2017.11.007. PMID: 29326962; PMCID: PMC5758940.

Elmore ZC, Oh DK, Simon KE, Fanous MM, Asokan A. Rescuing AAV gene transfer from neutralizing antibodies with an IgG-degrading enzyme. JCI Insight. 2020;5(19):e139881. Published 2020 Sep 17.

Howard, D. and Harvey, B., 2017. Assaying the Stability and Inactivation of AAV Serotype 1 Vectors. *Human Gene Therapy Methods*, 28(1), pp.39-48.

Kimura, T., Ferran, B., Tsukahara, Y., Shang, Q., Desai, S., Fedoce, A., Pimentel, D., Luptak, I., Adachi, T., Ido, Y., Matsui, R. and Bachschmid, M., 2019. Production of adeno-associated virus vectors for in vitro and in vivo applications. *Scientific Reports*, 9(1).

McCarty DM, Young SM Jr, Samulski RJ. Integration of adeno-associated virus (AAV) and recombinant AAV vectors. *Annu Rev Genet*. 2004;38:819-45. doi:10.1146/annurev.genet.37.110801.143717. PMID: 15568995.

Penaud-Budloo M, François A, Clément N, Ayuso E. Pharmacology of Recombinant Adeno-associated Virus Production. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2018 Jan 8;8:166-180. doi: 10.1016/j.omtm.2018.01.002. PMID: 29687035; PMCID: PMC5908265.

Ros-Gañán I, Hommel M, Trigueros-Motos L, et al. Optimising the IgG-degrading enzyme treatment regimen for enhanced adeno-associated virus transduction in the presence of neutralising antibodies. *Clin Transl Immunology*. 2022;11(2):e1375. Published 2022 Feb 24.

Schnepp BC, Jensen RL, Chen CL, Johnson PR, Clark KR. Characterization of adeno-associated virus genomes isolated from human tissues. *J Virol*. 2005 Dec;79(23):14793-803. doi:10.1128/JVI.79.23.14793-14803.2005. PMID: 16282479; PMCID: PMC1287572.

Tenenbaum L, Lehtonen E, Monahan PE. Evaluation of risks related to the use of adeno-associated virus-based vectors. *Curr Gene Ther*. 2003 Dec;3(6):545-65. doi: 10.2174/1566523034578131. PMID: 14683451.