

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/18/12
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	12 de junio de 2018
d) Título del proyecto:	Estudio de fase 3, sin enmascaramiento, con un único grupo, en el que se evalúan la eficacia y la seguridad de BMN 270 (transferencia génica del factor VIII humano mediante un vector vírico adenoasociado) en una dosis de 4 ¹³ vg/kg en pacientes con hemofilia A y concentración residual del FVIII ≤ 1 UI/dl, que reciben infusiones profilácticas de FVIII (número de protocolo: 270-302)
e) Período propuesto para la liberación:	Desde enero de 2019 a diciembre de 2019

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Bio Marin Pharmaceutical Inc.
-------------------------------------	-------------------------------

3. Definición de la 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)		

<p>b) Identidad del OMG (género y especie) Género: <i>Dependovirus</i>, Especie: <i>virus adenoasociado/serotipo 5 (VVA 5)</i></p>
<p>c) Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p><i>En general, los virus ADN presentan mayor estabilidad genética que los virus ARN. Desde un punto de vista termodinámico, el ADN es más estable que el ARN, y la replicación del ADN es un proceso menos propenso a los errores que la replicación del ARN. La estabilidad genética del VAA5-hFVIII-SQ se refuerza durante su producción, que se realiza de conformidad con las normas de correcta fabricación vigentes (NCFv), y se comprueba mediante pruebas de pureza, potencia y composición. La estabilidad genética se ha demostrado en tres niveles: estabilidad de la secuencia del genoma del vector; estabilidad mediante la producción <i>in vitro</i> de proteína funcional; estabilidad mediante la producción <i>in vivo</i> de proteína funcional.</i></p> <p>Al secuenciar el ADN del VAA5-hFVIII-SQ se demostró que la integridad del genoma del vector se mantuvo al final del proceso de fabricación. En un ensayo en células aisladas, se comprobó que BMN 270 produce factor VIII humano funcional <i>in vitro</i>; por otra parte, en los estudios en ratones se demostró que BMN 270 produce FVIII humano funcional <i>in vivo</i>, de forma dependiente de la dosis.</p> <p>El VVA5-hFVIII-SQ no puede replicarse. Se ha analizado su pureza para demostrar que no contiene ningún VAA que pueda replicarse. Puede producirse la recombinación homóloga si el organismo huésped se infecta con el VAA silvestre, un virus cooperador y la especialidad farmacéutica BMN 270, es decir, si se da una triple infección.</p>

4. Tiene previsto el mismo notificador la liberación de ese mismo OMG en algún otro lugar de la Comunidad (de acuerdo con el apartado 1 del artículo 6)?

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

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: Alemania (DE)	
- Número de la notificación:	

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

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

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

El VAA5-hFVIII-SQ es una versión desactivada del virus adeno-asociado (VAA) silvestre no patógeno, modificado mediante la delección de los genes *rep* y *cap*, lo que impide que se replique, aun en la presencia de un virus cooperador.

Si bien el VAA muestra especificidad por ciertas especies, *in vitro* puede replicarse en células de una especie diferente cuando estas se infectan en presencia de un virus cooperador que esa especie tolere (por ejemplo, el VAA humano puede replicarse en células caninas si estas se coinfectan con un adenovirus canino) (Berns y Bohenzky, 1987).

Se desconoce la frecuencia con la que la zoonosis ocurre en la naturaleza, ni tampoco si otras especies pueden actuar como portadoras o vectores en condiciones naturales.

Las modificaciones genéticas de VAA5-hFVIII-SQ no afectan su tropismo por el huésped ni el tropismo tisular naturales. No se prevé que se produzca transferencia de material genético entre el OMG y otros organismos.

No se han llevado a cabo estudios específicos sobre la transmisión del VAA5-hFVIII-SQ entre humanos o animales.

Se realizará seguimiento de la excreción como parte del ensayo clínico.

La transferencia de material genético se limita, teóricamente, al intercambio genético de ADN mediante recombinación homóloga con el VAA silvestre, lo que solo podría producirse si las células humanas se infectaran simultáneamente con el VAA silvestre y el VAA5-hFVIII-SQ, en presencia de un virus cooperador. En el caso del VAA5-hFVIII-SQ, dicha recombinación podría provocar únicamente el intercambio del casete de expresión del hFVIII con los genes *rep* y *cap* del virus silvestre. El genoma del VAA no puede incluir ambos genes *rep/cap* y el transgén, dado que supera el límite de empaquetamiento del virión.

Por tanto, el único mecanismo mediante el cual el transgén podría movilizarse sería a través de una triple infección de la misma célula con el VAA5-hFVIII-SQ (que contiene el transgén), el VAA silvestre (que incorpora las funciones *rep* y *cap*) y un virus cooperador. Se espera que esta situación se dé en raras ocasiones y, de producirse, únicamente provocaría la producción de más cantidad del VAA silvestre y más partículas del vector VAA5-hFVIII-SQ (que tampoco presentarían los genes *rep* y *cap* y, por lo tanto, no serían replicativas).

Cada paciente del estudio recibirá una única infusión intravenosa en un centro de administración (entorno hospitalario), según se muestra a

continuación:

Centro
Hospital Teresa Herrera Departamento de Hematología y hemoterapia, Unidad de hemostasis y trombosis
Hospital Universitario La Paz Departamento de Hematología, Unidad de hemostasis
Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) Hematología pediátrica

Podrán darse otras vías de administración (inhalación, contacto con las membranas mucosas [ojos, nariz y boca], transmisión fecho-oral y en ocasiones, a través del agua). El virus VAA parental se disemina principalmente mediante el contacto de las membranas mucosas. El contacto directo con las superficies, la exposición a aerosoles y las abrasiones (objetos punzocortantes) pueden facilitar la transmisión.

El derrame accidental del producto en investigación en los centros o en las instalaciones donde se administre el PEI, o la excreción del vector por parte de los pacientes podría provocar contaminación ambiental, lo que, en teoría, daría lugar a una transferencia involuntaria a humanos o animales. El VAA5 silvestre infecta humanos y primates, pero no a ningún otro organismo conocido, y se espera que el vector se comporte de manera similar. Si bien cabe una pequeña posibilidad de que se produzca transferencia génica entre humanos, dado que la cantidad sería tan baja y que el OMG no puede replicarse (aun en la presencia de un virus cooperador), el resultado sería despreciable.

Dado que el 94 % del genoma vírico está ausente y que no existen genes víricos, el OMG presenta por tanto una desventaja competitiva cuando se compara con la cepa parental / el VAA silvestre. No se espera que el transgén (el factor VIII de coagulación humano) confiera ninguna ventaja al OMG desde el punto de vista de la supervivencia y la presión selectiva.

La probabilidad de que se produzcan cambios posteriores a la liberación en las interacciones biológicas o el rango del huésped es insignificante, ya que las deleciones génicas en el VAA5-hFVIII-SQ impiden que se replique de forma independiente, aunque no afectan a las proteínas de empaquetamiento de la cápside vírica

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):
ii) Género: dependovirus
iii) Especie: virus adenoasociado
iv) Subespecie: Serotipo 5 (VAA5)
v) Cepa:
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.):
vii) Nombre vulgar: virus adenoasociado

3. Distribución geográfica del organismo

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

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:	
Agua	<input type="checkbox"/>
Suelo, en libertad	<input type="checkbox"/>
Suelo, en simbiosis radiculares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas	<input type="checkbox"/>
En simbiosis con animales	<input type="checkbox"/>

Otros , (especifíquense): El AAV silvestre sobrevive en el medio ambiente como una infección persistente en las especies de vertebrados huéspedes, o como una infección latente en el núcleo de algunas células infectadas, donde puede permanecer inactivo indefinidamente o reactivarse, dando lugar a la secreción del virus.

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

5.a) Técnicas de detección

1. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).
2. Cultivo vírico
3. Métodos basados en un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA)

5.b) Técnicas de identificación

Véase el apartado 5a

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese: El VAA cumple la definición de agente biológico del grupo de riesgo 1, de conformidad con la directiva 2000/54 /CE (“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

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: Se requiere la coinfección con un virus cooperador para que el VAA5 se replique en un huésped infectado, en cuyo caso la replicación se produciría en un plazo de 24 a 48 horas. En ausencia de un virus cooperador adecuado, no se produce la replicación.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: Se requiere la coinfección con un virus cooperador para que el VAA5 se replique en un huésped infectado, en cuyo caso la replicación se produciría en un plazo de 24 a 48 horas. La recombinación genómica homóloga puede producirse espontáneamente en la naturaleza entre genomas víricos de cepas de VAA solo si una célula del organismo huésped se infecta simultáneamente con dos cepas diferentes de VAA y un virus cooperador que la especie tolere (infección triple).
c) Modo de reproducción: NA Sexual <input type="checkbox"/> Asexual <input type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: La replicación del VAA silvestre depende la coinfección con un virus cooperador (como un adenovirus).

9. Capacidad de supervivencia

a) Capacidad de formar estructuras que favorezcan la supervivencia o el letargo
(i) endosporas <input type="checkbox"/>
(ii) quistes <input type="checkbox"/>
(iii) esclerocios <input type="checkbox"/>
(iv) esporas asexuales(hongos) <input type="checkbox"/>
(v) esporas sexuales (hongos) <input type="checkbox"/>
(vi) huevos <input type="checkbox"/>
(vii) pupas <input type="checkbox"/>
(viii) larvas <input type="checkbox"/>
(ix) otras (especifíquense) <input type="checkbox"/>
Si bien el AAV no forma estructuras de supervivencia, puede continuar siendo infeccioso durante al menos un mes a temperatura ambiente, tras una simple desecación o liofilización.

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia: La replicación del VAA silvestre depende la coinfección con un virus cooperador (como un adenovirus). El VAA puede continuar siendo infeccioso al menos durante un mes a temperatura ambiente, tras una simple desecación o liofilización.

10.a) Vías de diseminación

Se cree que el VAA se propaga en la naturaleza a través de la inhalación de gotitas aerosolizadas, el contacto con la membrana mucosa o la ingestión.

10.b) Factores que afectan a la diseminación

Las condiciones ambientales que pueden afectar la supervivencia del VAA5 fuera del huésped son la temperatura, el pH y la humedad ambiental.

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)

Bio Marin Pharmaceutical Inc. no ha realizado ninguna notificación de modificaciones genéticas del receptor o del organismo parental en España.

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) | <input type="checkbox"/> |

2. Resultado que se pretende obtener mediante la modificación genética

Con las modificaciones genéticas se eliminan las secuencias que codifican los genes rep y cap, lo que provoca la pérdida de la capacidad de replicación, y se inserta el casete de expresión del transgén del factor VIII humano, lo que provoca la expresión del hFVIII funcional en el hígado.

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):	<input type="checkbox"/>
b) Identidad del vector: El plásmido es la fuente de todo el fragmento de inserción del genoma del vector VAA5 (OMG) y contiene los genes víricos rep y cap necesarios para la producción del VAA5-hFVIII-SQ.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Los plásmidos se obtuvieron mediante las técnicas de biología molecular habituales: los componentes se escindieron y ligaron con precisión usando enzimas de restricción específicas y posteriormente se transdujeron y amplificaron en células bacterianas en cada etapa.	
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 type="checkbox"/>
Otras, (especifíquense) Secuencias de adenovirus	
Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: NA	

e) Fragmentos constituyentes del vector: El ADN del vector del plásmido presente en el VAA5-hFVIII-SQ se limita únicamente al casete de expresión del transgén hFVIII previsto y a las dos pequeñas repeticiones terminales víricas invertidas.

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense): transducción

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: La secuencia de casete codifica un factor VIII de coagulación humano sin el dominio B, al que controla un promotor específico del hígado, y que está flanqueado por repeticiones terminales invertidas.

b) Fuente de cada parte constitutiva del fragmento de inserción: El FVIII humano es, naturalmente, de origen humano. Las otras secuencias del genoma y del promotor son de origen sintético, vírico y mamífero.

c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG: El casete de expresión se limita a los elementos necesarios que se han diseñado para optimizar la expresión del factor de coagulación humano VIII funcional, controlado mediante un promotor específico del hígado. Las repeticiones terminales invertidas son necesarias para el empaquetamiento del genoma del vector en la cápside y la formación de los concatémeros episomales en las células transducidas.

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

- en un plásmido libre
- integrado en el cromosoma
- Otros especifíquense): como concatémeros episomales en las células del huésped

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

Sí No

En caso afirmativo , especifíquese:

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

1. Indíquese si es:

Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input checked="" 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): NA
iii) Género: Homo
iv) Especie: Sapiens
v) Subespecie: Sapiens
vi) Cepa: NA
vii) Cultivar/línea de reproducción: NA
viii) Patovar: NA
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 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?

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

A una multiplicidad de infección alta, el VAA silvestre se integra en el cromosoma 19 humano en el ~ 60% de las líneas celulares infectadas de forma latente. Sin embargo, recientemente se ha demostrado que solo aproximadamente 1 de cada 1000 unidades infecciosas puede integrarse (Tenenbaum *et al.*, 2003). Schnepf *et al.*, 2005 han demostrado que después de una infección adquirida naturalmente, el ADN del VAA silvestre puede persistir en los tejidos humanos principalmente como episomas circulares de doble cadena.

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: El VAA5-hFVIII-SQ no puede replicarse de forma independiente, aun en la presencia de un virus cooperador, dado que no incluye los genes rep y cap necesarios para el rescate/empaquetamiento.</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: El VAA5-hFVIII-SQ no puede replicarse de forma independiente, aun en la presencia de un virus cooperador, dado que no incluye los genes rep y cap necesarios para el rescate/empaquetamiento.</p>
<p>c) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la diseminación?</p> <p>Sí <input checked="" type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: El VAA5-hFVIII-SQ no puede replicarse de forma independiente, aun en la presencia de un virus cooperador, dado que no incluye los genes rep y cap necesarios para el rescate/empaquetamiento. Por lo tanto, aunque tiene la capacidad de infectar células, el hecho de que no tenga capacidad de replicación limitará en gran medida la diseminación.</p>
<p>d) ¿Se diferencia en algo el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad?</p> <p>Sí <input type="checkbox"/> No <input checked="" type="checkbox"/> No se sabe <input type="checkbox"/></p> <p>Especifíquese: Ni el VAA silvestre ni el vector experimental VAA5-hFVIII-SQ son patógenos para los humanos.</p>

2. Estabilidad genética del organismo modificado genéticamente

El VAA5-hFVIII-SQ no puede replicarse de forma independiente, aun en la presencia de un virus cooperador, dado que no incluye los genes rep y cap necesarios para el rescate/empaquetamiento. Si se considera el hecho de que la actividad terapéutica a largo plazo del fármaco en investigación no depende de la replicación del VAA recombinante y la estabilidad genética del VAA parental silvestre, se prevé que los rasgos genéticos del organismo sean estables. Véase también el apartado A.3c

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 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.		
Ni el VAA silvestre ni el vector experimental VAA5-hFVIII-SQ son patógenos para los humanos.		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG en el medio ambiente: Para detectar elementos genéticos del OMG, pueden utilizarse métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con cebadores específicos del genoma del vector.
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: Para detectar elementos genéticos del OMG, pueden utilizarse métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa con cebadores específicos del genoma del vector.

F. Información sobre la liberación

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

Estudio de fase 3, sin enmascaramiento, con un único grupo, en el que se evalúan la eficacia y la seguridad de BMN 270 (transferencia génica del factor VIII humano mediante un vector vírico adenoasociado) en una dosis de 4^{13} vg/kg en pacientes con hemofilia A y concentración residual del FVIII ≤ 1 UI/dl, que reciben infusiones profilácticas de FVIII (número de protocolo: 270-302)

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

Sí

No

En caso afirmativo, especifíquese:

El OMG incapaz de replicarse se administra por vía intravenosa. Se prevé que se excrete una cantidad pequeña del ADN del vector, de forma pasajera. No obstante, se ha demostrado que los vectores derivados de VAA excretados no son infecciosos.

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

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

La administración del PEI tendrá lugar en cada uno de los centros que se enumeran a continuación, en los que también se realizará el seguimiento (incluida la manipulación de las biomuestras) de los pacientes del estudio tras el primer día (día 1) en el que se administre BMN 270:

Centro
Hospital Teresa Herrera Departamento de Hematología y hemoterapia, Unidad de hemostasis y trombosis
Hospital Universitario La Paz Departamento de Hematología, Unidad de hemostasis
Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) Hematología pediátrica

b) Área del lugar (m²):

(i) lugar real de la liberación (m²): NA

(ii) área de liberación más amplia (m²): NA

<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>No procede, dado que el material excretado, de haberlo, no es infeccioso.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG: Ninguno</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a) Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>En España se tratará a 10 pacientes como máximo en el estudio 270-302, cada uno de los cuales recibirá una dosis única de BMN 270 en una dosis de 4^{13} vg/kg Por lo tanto, la cantidad máxima del OMG que se liberará será de $3,2^{16}$ vg, si se supone que el peso medio de los pacientes es de 80 kg.</p>				
<p>b) Duración de la operación:</p> <p>Se prevé que la totalidad del procedimiento de administración (incluida la preparación del sistema de infusión) dure menos de 8 horas.</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>La preparación del producto en fase de investigación tendrá lugar en un entorno hospitalario autorizado. Personal con la debida formación y autorizado administrará el producto en investigación en los centros del estudio que se indican a continuación, de acuerdo con las buenas prácticas clínicas y el protocolo del estudio:</p> <table border="1" data-bbox="279 1332 1364 1706"> <tr> <td>Centro</td> </tr> <tr> <td>Hospital Teresa Herrera Departamento de Hematología y hemoterapia, Unidad de hemostasis y trombosis</td> </tr> <tr> <td>Hospital Universitario La Paz Departamento de Hematología, Unidad de hemostasis</td> </tr> <tr> <td>Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) Hematología pediátrica</td> </tr> </table>	Centro	Hospital Teresa Herrera Departamento de Hematología y hemoterapia, Unidad de hemostasis y trombosis	Hospital Universitario La Paz Departamento de Hematología, Unidad de hemostasis	Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) Hematología pediátrica
Centro				
Hospital Teresa Herrera Departamento de Hematología y hemoterapia, Unidad de hemostasis y trombosis				
Hospital Universitario La Paz Departamento de Hematología, Unidad de hemostasis				
Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) Hematología pediátrica				

El método primario de contención durante el procedimiento de administración i.v. es la aplicación de las precauciones habituales / universales para materiales infecciosos. El personal que manipule el OMG usará delantales desechables, guantes, protección ocular y máscaras quirúrgicas. En los laboratorios en los que se manipulen las muestras clínicas (por ejemplo, muestras de sangre), se aplicaran las precauciones habituales para fluidos corporales.

Todo el personal que participe en la administración del producto en investigación debe recibir formación interna sobre el método de administración adecuado y participar en una simulación de la preparación y administración, antes de

administrar la infusión al primer paciente. Los centros de investigación cumplen todas las directrices nacionales, de la UE y voluntarias relativas a la realización de ensayos clínicos, así como las correspondientes normas de bioseguridad que exige la EMA a las investigaciones médicas de terapias génicas. Consideramos que la investigación realizada en este marco reduce adecuadamente los riesgos para la salud pública de dicha investigación y, por lo tanto, no se adoptarán medidas adicionales. Únicamente personal cualificado, que esté familiarizado con los procedimientos para minimizar la exposición innecesaria para ellos o el medio ambiente, debe encargarse de la preparación, la manipulación y la eliminación segura del VAA5/hFVIII.

La destrucción del producto en investigación que no se utilice y la destrucción o descontaminación de todos los materiales que pudieron haberse contaminado con aquel se comentan en el apartado correspondiente al tratamiento de residuos.

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

En España, el estudio clínico del VAA5-hFVIII-SQ se realizará en salas de tratamiento, en condiciones ambientales controladas.

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

Ninguno

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 objeto de investigación (si procede)

i) Orden y taxón superior (animales): Primates

ii) Familia (plantas): NA

iii) Género: Homo

iv) Especie: Sapiens

v) Subespecies: Sapiens

vi) Cepa: NA

vii) Cultivar/Línea de reproducción: NA

viii) Patovar: NA
ix) Nombre vulgar: Humano

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

BMN 270 es un vector que codifica una forma funcional del factor FVIII. El vector se introduce en los hepatocitos mediante la unión a los receptores de la cápside vírica en la superficie de las células hepáticas, y posteriormente se eliminan las proteínas de la cápside y el ADN se transloca al núcleo, donde permanece en forma episomal estable. En el núcleo, el transgén codifica la proteína FVIII, que se secreta a la circulación.
 BMN 270 se administrará mediante una única dosis intravenosa, y se ha diseñado para lograr una expresión plasmática estable y posiblemente a largo plazo del hFVIII activo, sintetizado a partir de tejido hepático transducido con el vector.

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

No se ha determinado que el VAA5 silvestre infecte a ningún organismo en el medio ambiente, salvo a primates. Si bien cabe la posibilidad de que la transferencia génica se produzca entre humanos, dado que la cantidad sería tan baja y que el OMG no puede replicarse (aun en la presencia de un virus cooperador), el riesgo de interacciones con otros organismos del entorno sería despreciable.

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:		

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

La probabilidad de que se produzcan cambios posteriores a la liberación en las interacciones biológicas o el rango del huésped es insignificante.
 El VAA se introduce en la célula mediante la interacción de epítomos específicos de la cápside vírica con receptores de la superficie celular. El gen insertado en el VAA5-hFVIII-SQ es el hFVIII, un factor de coagulación humano que está empaquetado en proteínas de la cápside vírica procedente del VAA5 y, por lo tanto, no se prevé que altere el rango de huésped o el tropismo celular del virus. Las deleciones génicas en el VAA5-hFVIII-SQ impiden que el virus se replique de forma independiente, pero no afectan a las proteínas de empaquetamiento de la cápside vírica, por lo que no se espera que tengan ningún efecto sobre el rango del huésped o el tropismo celular.

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

7. Probabilidad de intercambio genético en vivo

<p>a) Del OMG a otros organismos del ecosistema de liberación:</p> <p>El VAA5-hFVIII-SQ es un virus derivado del virus VAA5, incapaz de replicarse. Las modificaciones genéticas no afectan su tropismo por el huésped ni el tropismo tisular naturales. No se prevé que se produzca transferencia de material genético entre el OMG y otros organismos.</p> <p>Por tanto, la transferencia de material genético se limita, teóricamente, al intercambio genético de ADN mediante recombinación homóloga con el VAA silvestre, lo que solo podría producirse si las células humanas se infectaran simultáneamente con el VAA silvestre y el VAA5-hFVIII-SQ, en presencia de un virus cooperador. En el caso del VAA5-hFVIII-SQ, dicha recombinación podría provocar únicamente el intercambio del casete de expresión del hFVIII con los genes rep y cap del virus silvestre. El genoma del VAA no puede incluir ambos genes rep/cap y el transgén, dado que supera el límite de empaquetamiento del virión.</p> <p>Por tanto, el único mecanismo mediante el cual el transgén podría movilizarse sería a través de una triple infección de la misma célula con el VAA5-hFVIII-SQ (que contiene el transgén), el VAA silvestre (que incorpora las funciones rep y cap) y un virus cooperador. Se espera que esta situación se dé en raras ocasiones y, de producirse, únicamente provocaría la producción de más cantidad del VAA silvestre y más partículas del vector VAA5-hFVIII-SQ (que tampoco presentarían los genes rep y cap y, por lo tanto, no serían replicativas).</p>
--

b) De otros organismos al OMG:
Según se ha indicado anteriormente.

c) Consecuencias probables de la transferencia de genes:
El genoma del VAA no puede incluir ambos genes rep/cap y el transgén, dado que supera el límite de empaquetamiento del virión. La situación descrita anteriormente únicamente provocaría la producción de más cantidad del VAA silvestre y más partículas del vector VAA5-hFVIII-SQ (que tampoco presentarían los genes rep y cap y, por lo tanto, no serían replicativas).

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 llevado a cabo estudios específicos sobre la transmisión del VAA5-hFVIII-SQ entre humanos o animales.

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

Ninguna conocida o prevista. No se ha demostrado que el VAA participe en ningún proceso biogeoquímico. No respira y no contribuye a la producción primaria ni a los procesos de descomposición. En su forma de virión, no presenta actividad metabólica.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

El seguimiento de los efectos directos e indirectos de BMN 270 en los pacientes se realizará mediante las evaluaciones clínicas que se describen en el protocolo del ensayo clínico. Los investigadores del estudio supervisarán a los pacientes durante el tratamiento y notificarán los efectos adversos de conformidad con los requisitos estipulados en el protocolo.
Se realizará el seguimiento de la excreción del vector en diferentes momentos posteriores a la administración (mediante PCR).

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No está previsto realizar seguimiento del entorno ni de los destinatarios no deseados, ni se considera necesario.

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

PCR
Sin embargo, se ha demostrado que el material excretado no es infeccioso y, por lo tanto, no se prevé que se produzca transferencia de material genético procedente del paciente a otros organismos

4. Tamaño del área de seguimiento (m²)

No procede

5. Duración del seguimiento

Se realizará el seguimiento del paciente durante su participación en el estudio, incluido un período de seguimiento de la seguridad, según se define en el protocolo del estudio.

6. Frecuencia del seguimiento

El seguimiento se realizará de acuerdo con los calendarios definidos de antemano en el protocolo del estudio.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Todos los materiales desechables (entre otros, guantes, mascarillas, jeringas, agujas, catéteres y tubos) que entren en contacto con el producto en investigación se eliminarán como materiales de riesgo biológico (residuos sanitarios o biosanitarios de clase III), de conformidad con la normativa nacional y regional sobre gestión de los residuos sanitarios. Una empresa autorizada de gestión de residuos peligrosos los eliminará en contenedores para residuos biológicos adecuados para objetos sólidos o punzocortantes, y los descontaminarán mediante esterilización por vapor.

El producto en investigación que no se haya utilizado y los viales, tapones y precintos se eliminarán en un contenedor aprobado para residuos sólidos biológicos, de acuerdo con el procedimiento indicado anteriormente. Los materiales, equipos y superficies no desechables se descontaminarán con desinfectantes de amplio espectro y actividad probada contra virus sin envoltura. Se pueden utilizar soluciones tales como SPRINT H-100 (compuesto clorado) o Quacide Pq60 (amonio cuaternario).

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

El personal sanitario en los centros de administración seguirá y documentará las instrucciones y las hojas de trabajo que documentan la destrucción del producto en investigación sin diluir que no se haya utilizado, junto con los residuos producidos. En general, el OMG se eliminará según los procedimientos para residuos biológicos y posteriormente se esterilizará en un autoclave de vapor saturado. El OMG que los pacientes puedan excretar tras la administración se tratará añadiendo lejía comercial al inodoro antes de tirar de la cadena. Los pacientes masculinos no deberán mantener relaciones sexuales.

3(a) Tipo y cantidad de residuos producidos

El VAA5-hFVIII-SQ se administrará mediante una única infusión intravenosa a los varones adultos con hemofilia A de carácter grave que se consideren idóneos y proporcionen el consentimiento.

Los residuos derivados de la preparación de la infusión del VAA5-hFVIII-SQ se limitan a:

- Viales utilizados del medicamento en investigación.
- Material utilizado en la preparación (jeringas, agujas, viales).
- Kits y bolsas de infusión utilizados.
- Bolsas utilizadas para el transporte en el centro de los equipos posiblemente contaminados.
- Hisopos y artículos utilizados para limpiar el área de inyección.
- Equipo de protección personal utilizado durante la preparación y la administración de la dosis.

3(b) Tratamiento de residuos

El VAA5-hFVIII-SQ es un virus no patógeno incapaz de replicarse que se considera que presenta un riesgo mucho menor para la salud humana que otros desechos biológicos humanos que a menudo se eliminan en los centros médicos. El VAA5-hFVIII-SQ puede inactivarse mediante distintos métodos físicos y químicos muy comunes.

Todos los materiales desechables (entre otros, guantes, mascarillas, jeringas, agujas, catéteres y tubos) que entren en contacto con el producto en investigación durante la preparación de la dosis o la obtención de las muestras biológicas se eliminarán como materiales de riesgo biológico (residuos sanitarios de clase III). Se encargará de ello una empresa autorizada de gestión de residuos peligrosos, que los eliminará en contenedores para residuos biológicos adecuados para objetos sólidos o punzocortantes, y los descontaminarán mediante esterilización por vapor.

El BMN 270 no utilizado o parcialmente utilizado debe conservarse en el centro de administración para la contabilidad y el seguimiento del medicamento en investigación. Por último, el material que no se haya utilizado se eliminará como material de riesgo biológico (residuos sanitarios o biosanitarios de clase III), de acuerdo con el mismo procedimiento indicado anteriormente

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

El VAA silvestre es un *dependovirus* de una única cadena de ADN, no patógeno, que precisa de un virus ADN cooperador para replicarse. El VAA5-hFVIII-SQ procede del VAA silvestre, aunque no codifica ningún gen de replicación en el casete de expresión y, por lo tanto, es incapaz de replicar su genoma de forma independiente.

La probabilidad de que se produzca la diseminación imprevista del VAA5-hFVIII-SQ en el medio ambiente es despreciable, debido a:

- La atenuación del OMG, que hace que tenga menos capacidad de replicación que el virus parental (VAA5), por la delección de los genes de replicación.
- La administración intravenosa a los pacientes idóneos por parte de profesionales sanitarios en un centro médico.
- El limitado tropismo tisular y por el huésped (humano/primate) del virus parental (VAA5).
- La incidencia baja y transitoria de excreción de virus infeccioso por parte de los individuos tratados.
- El alto grado de inmunidad adaptativa en la población humana.

Por tanto, la diseminación involuntaria del VAA5-hFVIII-SQ a receptores humanos es muy improbable y se limitaría a casos únicos en localizaciones geográficas separadas. Se considera que el riesgo de infección generalizada es despreciable.

El único caso previsible de diseminación inesperada sería si se produjera un derrame durante la preparación o administración del producto en estudio, aunque en todo

momento se contendría dentro de la estancia donde tuviera lugar. En esta situación, se seguirán las instrucciones del apartado siguiente, que deberá consultarse también si se desea información sobre los métodos para la eliminación del VAA5-hFVIII-SQ en las áreas posiblemente afectadas.

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

Si el producto en investigación se derrama o se dispersa durante su preparación o administración, deben seguirse los procedimientos del manual de farmacia del estudio (que se han proporcionado al centro de administración central) de conformidad con las prácticas habituales para la limpieza de derrames de residuos biológicos peligrosos, como los que se utilizan para tratar patógenos de posible transmisión hemática.

Por ejemplo, según se establece en el manual de farmacia:

- Notifique el derrame a otras personas y aisle el área.
- Si aún no los lleva, póngase el equipo de protección personal adecuado: delantales desechables, guantes, mascarilla facial de protección frente a partículas y anteojos de seguridad, protector facial o gafas protectoras.
- Retire los vidrios rotos u objetos punzocortantes con un fórceps o una herramienta adecuada y colóquelos en un recipiente para objetos punzocortantes.
- Descontamine el área donde se haya producido el derrame.
 - o Coloque material absorbente sobre el derrame.
 - o Añada una solución desinfectante sobre el material absorbente y deje que absorba el líquido.
 - o Recoja el material absorbente con un cepillo e introdúzcalo en una bolsa para residuos infecciosos, para su eliminación.
 - o Lave la zona con un desinfectante adecuado (solución SPRINT H-100 o Quacide Pq60) y deseche todos los materiales desechables como residuos biológicos.

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 será necesario descontaminar plantas, animales (no humanos) ni suelos.

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

En caso de que se produzca algún incidente relacionado con la manipulación del OMG en España, la información se enviará a la CNB (Comisión Nacional de Bioseguridad) y al CIOMG (Consejo Interministerial de Organismos Genéticamente Modificados).

El VAA5-hFVIII-SQ se regulará de conformidad con las leyes españolas sobre medicamentos, en las que se establece una farmacovigilancia rigurosa supervisada por las autoridades competentes (AEMPS) y el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Se recogerá información sobre todos los

acontecimientos adversos individuales y se enviará al AEMPS y al comité de ética responsable del ensayo si dichos acontecimientos cumplen los criterios para que se consideren una sospecha de reacción adversa grave inesperada (SRAGI), según se define en el protocolo del ensayo clínico. Los informes anuales de seguridad se enviarán a la AEMPS, a los comités de ética y las autoridades locales competentes mientras el ensayo esté en curso.