

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

A. Información de carácter general:

1. Detalles de la notificación

a) Estado miembro de la notificación:	España
b) Número de la notificación:	B/ES/22/24
c) Fecha del acuse de recibo de la notificación:	20/10/2022
d) Título del proyecto:	Ensayo en fase I/II, abierto y multicéntrico con una cohorte de dosis ascendente única con inyección intracocular unilateral seguida de una cohorte de ampliación con inyección bilateral para evaluar la seguridad, tolerabilidad y eficacia de DB-OTO en niños y lactantes con mutaciones bialélicas de hOTOF
e) Período propuesto para la liberación:	01/01/2023 - 01/04/2028

2. Notificador

Nombre de la institución o empresa:	Decibel Therapeutics, Inc. 1325 Boylston Street Suite 500 Boston, Massachusetts 02215 Estados Unidos de América
-------------------------------------	--

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"/>

	<p>- mamíferos <input type="checkbox"/></p> <p>- insectos <input type="checkbox"/></p> <p>- peces <input type="checkbox"/></p> <p>- otro animal <input type="checkbox"/> especifique el phylum y la clase</p>
Otro, especifíquese (reino, phylum y clase)	
b)	<p>Identidad del OMG (género y especie)</p> <p>Familia: <i>Parvoviridae</i></p> <p>Género: Dependovirus</p> <p>Especies: Virus adenoasociado (AAV)</p> <p>Cepa: AAV1 sin capacidad para replicación AAV recombinante que contiene las repeticiones terminales invertidas (RTI) de AAV2 empaquetadas en una cápside de AAV1 y lleva la secuencia de ADNc del gen de otoferlina 5' o 3' humano.</p>
c)	<p>Estabilidad genética, de acuerdo con el punto 10 de la letra A de la sección II del anexo III A:</p> <p>DB-OTO es un AAV sin capacidad para la replicación que contiene el gen de la otoferlina que experimenta expresión episómica en células posmitóticas, por lo que no deberían producirse mutaciones espontáneas ni recombinación con otros virus.</p> <p>Se espera que DB-OTO (una mezcla 1:1 de DB-OTO-5 que contiene la secuencia 5' de ADNc de hOTOFv5 y DB-OTO-3 que contiene la secuencia 3' de ADNc de hOTOFv5) sea altamente estable genéticamente. DB-OTO-5 y DB-OTO-3 se generan mediante la transfección transitoria de una línea celular de producción utilizando plásmidos secuenciados completamente caracterizados. La producción del vector en el proceso de fabricación y la síntesis de segunda cadena del genoma del vector dependen de la ADN polimerasa del anfitrión, caracterizada por una polimerización de ADN de alta fidelidad y actividad de exonucleasa de corrección adicional, lo que conduce a una tasa de error muy baja de replicación del ADN.</p> <p>La integridad genómica de los genomas de vector de DB-OTO-5 y DB-OTO-3 se analiza en el principio activo. Además, el principio activo y el medicamento se caracterizan por un panel completo de controles en el proceso y pruebas de liberación que garantizan que los atributos de calidad esenciales cumplan los criterios de aceptación.</p> <p>Fuera del sistema de producción, también se espera que el vector permanezca genéticamente estable, ya que DB-OTO-5 y DB-OTO-3 son incapaces de replicarse de forma independiente, incluso en presencia de un virus auxiliar, ya que carece de los genes rep y cap necesarios para la replicación y el empaquetado, respectivamente.</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 type="checkbox"/>	No <input checked="" type="checkbox"/>
En caso afirmativo, indique el código del país:	

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

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

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

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

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

La administración de DB-OTO solo la realizarán profesionales médicos formados en centros clínicos. Por lo tanto, no se prevé que DB-OTO entre en contacto directo con el medioambiente. Por lo tanto, el impacto medioambiental de la DB-OTO es insignificante.

Además, los vectores clínicos DB-OTO-5 y DB-OTO-3 no tienen capacidad para la replicación por su diseño, y no contendrán ninguna secuencia de virus (auxiliar) con capacidad para la replicación. Incluso si se produce una liberación accidental, el OMG no podrá propagarse en el medioambiente. En el caso de exposición accidental y transferencia del vector a un receptor humano o no humano no deseado, los riesgos se consideran insignificantes, ya que el vector no puede replicarse, no es patógeno que se sepa, y es poco probable que la cantidad de partículas cause infecciones significativas en individuos expuestos.

B. Información sobre el organismo receptor o sobre los organismos parentales de los que se deriva el OMG

1. Identificación del organismo receptor o parental

a) Indíquese si el organismo receptor o parental es :	
Viroide	<input type="checkbox"/>
Virus ARN	<input type="checkbox"/>
Virus ADN	<input checked="" type="checkbox"/>
Bacteria	<input type="checkbox"/>
Hongo	<input type="checkbox"/>
Animal	<input type="checkbox"/>
- mamíferos	<input type="checkbox"/>
- insectos	<input type="checkbox"/>
- peces	<input type="checkbox"/>
- otro animal	<input type="checkbox"/>
(especifique el phylum y la clase)	
Otros, (especifíquense):	

2. Nombre

i) Orden y taxón superior (animales): <i>Parvoviridae</i>
ii) Género: <i>Dependoparvovirus</i>
iii) Especie: <i>Virus adenoasociado (AAV)</i>
iv) Subespecie: <i>N/P</i>
v) Cepa: <i>AAV1</i>
vi) Patovar (biotipo, ecotipo, raza, etc.): <i>N/P</i>
vii) Nombre vulgar: <i>Virus adenoasociado 1</i>

3. Distribución geográfica del organismo

a) Autóctono del país que notifica o establecido en él:		
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>	No se sabe <input type="checkbox"/>

b) Autóctono de otros países de la Comunidad o establecido en ellos:

i) Sí

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

Atlántico

Mediterráneo

Boreal

Alpino

Continental

Macaronésico

ii) No

iii) No se sabe

c) ¿Se usa frecuentemente en el país que notifica? **N/P**

Sí No

d) ¿Es frecuente su tenencia en el país que notifica? **N/P**

Sí No

4. Hábitat natural del organismo

a) Si es un microorganismo:

Agua

Suelo, en libertad

Suelo, en simbiosis radiculares de plantas

En simbiosis con sistemas foliares o caulinares de plantas

En simbiosis con animales

Otros , (especifíquense): **Los anfitriones son humanos y primates no humanos**

b) Si es un animal , hábitat natural o ecosistema agrícola habitual: **N/P**

5. a) Técnicas de detección

Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR, quantitative polymerase chain reaction)

5. b) Técnicas de identificación

Reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas (ddPCR, droplet digital polymerase chain reaction),
Ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay),
Electroforesis capilar con dodecilsulfato sódico (CE-SDS, capillary electrophoresis sodium dodecyl sulfate),
Cromatografía líquida de alta resolución: cromatografía de exclusión de tamaño (HPLC-SEC, high-performance liquid chromatography-size exclusion chromatography)

Masa intacta de proteínas de la cápside mediante cromatografía líquida de espectrometría de masas (LC-MS, liquid chromatography mass spectrometry)

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: Los AAV no se han clasificado en virtud de la Directiva 2000/54/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de septiembre de 2000, sobre la protección de los trabajadores frente a riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos en el trabajo. El AAV cumple la definición de agente biológico del grupo 1 de acuerdo con la Directiva 2000/54/CE (un agente biológico que es improbable que cause enfermedades humanas).	

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 N/P		
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.		

8. Información sobre reproducción

a) Tiempo de generación en ecosistemas naturales: Después de entrar en el núcleo de la célula anfitriona, el AAV de tipo natural (WT, wild-type) puede seguir una de las dos vías distintas e intercambiables de su ciclo de vida: la fase lítica o la fase latente. Para entrar en una fase lítica, una célula infectada latente debe ser sobreinfectada con un virus auxiliar, incluido el rescate del genoma del ADN del provirus, seguido de la replicación y el empaquetado del genoma viral. Por último, tras la lisis celular inducida por virus auxiliar, se liberan los viriones recién ensamblados.
b) Tiempo de generación en el ecosistema en el que vaya a ser liberado: N/P
c) Modo de reproducción Sexual <input type="checkbox"/> N/P Asexual <input checked="" type="checkbox"/>
d) Factores que afectan a la reproducción: La reproducción del AAV WT depende de la coinfección con virus auxiliares, como adenovirus, virus de la vaccinia, virus del herpes simple, citomegalovirus o virus del papiloma humano.

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)
El AAV puede persistir en las células anfitrionas como concatémeros episómicos o estar integrado en el ADN de las células anfitrionas (los genes rep son necesarios para la integración específica del lugar en genoma de las células anfitrionas).

b) Factores pertinentes que afectan a la capacidad de supervivencia Fuera del anfitrión, los virus no envueltos en lípidos como el AAV son resistentes a desinfectantes de nivel bajo, sobreviven bien fuera del entorno del laboratorio. Las partículas de AAV son resistentes a un amplio intervalo de pH (pH 3-9) y pueden resistir al calentamiento a 56 °C durante 1 hora (Berns and Bohenzky, 1987). El AAV no forma estructuras de supervivencia, pero puede permanecer infeccioso durante al menos un mes a temperatura ambiente tras una simple desecación o liofilización. El AAV se inactiva fácilmente con desinfectantes como hipoclorito sódico al 0,5 %, peroximonosulfato de potasio al 0,45 %, ácido peracético al 0,5 % o lejía al 10 %. El AAV también se inactiva mediante autoclave durante 30 minutos a 121 °C. Es resistente a los desinfectantes a base de alcohol.

10. a) Vías de diseminación

Los AAV pueden transmitirse por ingestión, inhalación de aerosoles o gotas, o contacto con membranas mucosas (Baldo et al., 2013).

10. b) Factores que afectan a la diseminación

Los factores que afectan a la diseminación del AAV WT, en general, son la dosis de exposición, la formación de aerosoles y la cercanía de los contactos. Los AAV WT no pueden replicarse a menos que se produzca 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)

N/P

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 previsto de las modificaciones fue eliminar los genes rep y cap del genoma del AAV WT. Los únicos elementos víricos restantes son las RTI necesarias para la producción de DB-OTO-5 y DB-OTO-3.

Entre las RTI, se ha insertado un casete de expresión para proporcionar un transgén funcional que codifica el gen hOTOFv5 humano. La proteína hOTOF funcional se expresa en las células ciliadas internas (responsables de la transducción del sonido)

que utilizan otoferlina para una transmisión sináptica adecuada al sistema auditivo, lo que mejora la audición en los pacientes.

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: Se utilizan cuatro plásmidos para suministrar todos los componentes necesarios para producir DB-OTO (plásmido de rep./cap., plásmido auxiliar, plásmido hOTOF de 5', plásmido hOTOF de 3'). Estos se construyeron utilizando ADN sintético y técnicas de biología molecular estándar para formar los plásmidos finales.	
c) Gama de organismos huéspedes del vector: Los plásmidos se han propagado en bacterias.	
d) Presencia en el vector de secuencias que den un fenotipo seleccionable o identificable	
Sí <input checked="" type="checkbox"/>	No <input type="checkbox"/>
Resistencia a los antibióticos	<input checked="" type="checkbox"/>

Otras, (especifíquense)

Indique qué gen de resistencia a los antibióticos se inserta: [Kanamicina](#)

e) Fragmentos constituyentes del vector

Los componentes necesarios para crear DB-OTO-5 y DB-OTO-3 los proporcionan los plásmidos.

Estos plásmidos contienen el casete de transgén flanqueado por RTI, los genes rep (para replicación y empaquetado del casete de transgén), el gen cap (necesario para fabricar la cápside) y los genes auxiliares adenovíricos (E4 y E2a).

f) Método de introducción del vector en el organismo receptor

i) transformación

ii) electroporación

iii) macroinyección

iv) microinyección

v) infección

vi) otros, (especifíquense)

[Transfección \(DB-OTO-5 y DB-OTO-3 se construyen lote por lote mediante la transfección de la línea celular de producción con plásmidos\)](#)

5. Si las repuestas a C. 3) a) y b) son negativas, ¿qué método se siguió en el proceso de modificación? [N/P](#)

i) transformación

ii) microinyección

iii) macroencapsulación

iv) macroinyección

v) otros, (especifíquense)

6. Información sobre el fragmento de inserción:

a) Composición del fragmento de inserción:

DB-OTO-3 incorpora los siguientes elementos clave:

- Un casete de expresión flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (RTI) del serotipo 2 del AAV (AAV2) de tipo natural (WT)
- Región homóloga derivada de la fosfatasa alcalina (FA) para que el vector 3' pueda someterse a recombinación homóloga con el vector 5', formando un casete funcional de hOtof5
- Secuencia de aceptador de empalme (SA) para facilitar la eliminación, mediante empalme, de la región FA y las secuencias RTI para generar un ARNm maduro que codifica la secuencia de codificación de hOtof5 de longitud completa
- Componente 3' de la isoforma 5 del gen de la otoferlina humana (hOtof5)
- Secuencia de poliadenilación (poliA) para finalizar la transcripción de la secuencia de hOtof5 de longitud completa reconstituida.

DB-OTO-5 incorpora los siguientes elementos clave:

- Un casete de expresión flanqueado por las repeticiones terminales invertidas (RTI) del serotipo 2 del AAV (AAV2) de tipo natural (WT)
- Un promotor específico de las células capilares (Myo15) que impulsa la expresión génica de los estereocilios en las células ciliadas del oído interno
- Componente 5' de la isoforma 5 del gen de la otoferlina humana (hOtof5)
- Secuencia de donante de empalme (SD) compatible con la secuencia SA en DB-OTO-3 para facilitar la eliminación, mediante empalme, de la región FA y las secuencias RTI para generar un ARNm maduro que codifica la secuencia de codificación de hOtof5 de longitud completa

Región homóloga derivada de la fosfatasa alcalina (FA) para que el vector 3' pueda someterse a recombinación homóloga con el vector 5', formando un casete funcional de hOtof5

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

RTI: derivadas de AAV2

Promotor: humano

Regiones FA: humanas

SA/SD: humano

Transgén terapéutico: humano

Señal de poliadenilación: bovina

<p>c) Función prevista de cada parte constitutiva del fragmento de inserción en el OMG</p> <p>RTI: para permitir la replicación y el empaquetado del casete de transgenes en la cápside, así como para la síntesis de segunda cadena</p> <p>Promotor: para impulsar la expresión génica específica en células ciliadas del oído interno</p> <p>Regiones FA: de modo que el vector 3' puede someterse a recombinación homóloga con el vector 5', formando un casete funcional de hOtofV5</p> <p>SA/SD: para facilitar la eliminación, mediante empalme, de la región FA y las secuencias de RTI para generar un ARNm maduro que codifica la secuencia de codificación de hOtofV5 de longitud completa</p> <p>Transgén terapéutico: para transferir una copia funcional del gen defectuoso <i>hOtofV5</i></p> <p>Señal de poliadenilación: para mejorar la expresión génica</p>
<p>a) 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 style="text-align: right;">Con respecto al paciente, el OMG es principalmente extracromosómico por la formación de concatémeros episómicos.</p>
<p>b) ¿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) La siguiente información se refiere al organismo del que se deriva el transgén terapéutico insertado (*hOtof_v5*).

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 (especifiquense)	

2. Nombre completo

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

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

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

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

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

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"/>
--	-----------------------------	-------------------------------------

El AAV WT puede integrarse de una manera específica del lugar en el cromosoma 19 (un punto denominado AAVS1) por un mecanismo dependiente del rep (Dutheil et al., 2000). Aproximadamente el 0,1 % de los genomas AAV WT infectados se integran en AAVS1 (Deyle y Russell, 2009).

En ausencia de rep, como es el caso de los vectores AAV recombinantes (rAAV), la integración cromosómica es infrecuente. El ADN administrado por vectores rAAV persiste predominantemente como elementos extracromosómicos (episomas) en lugar de integrarse en los genomas de las células anfitrionas.

un panel completo de controles en el proceso y pruebas de liberación que garantizan que los atributos de calidad esenciales cumplan los criterios de aceptación.

Una vez administrado al paciente, la formación de partículas víricas con capacidad para la replicación que transportan el casete terapéutico se considera muy improbable principalmente porque 1) requeriría una coinfección con un virus auxiliar y una recombinación con un genoma AAV WT simultáneas para obtener una partícula vírica con capacidad para la replicación dentro de la misma célula, y 2) la eficiencia del empaquetado se verá profundamente afectada por la inserción de ADN por encima de la capacidad de empaquetado de 4,7 kb.

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? N/P	<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 N/P		

4. Descripción de los métodos de identificación y detección

a) Técnicas utilizadas para detectar el OMG: Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (qPCR)
b) Técnicas utilizadas para identificar el OMG: Reacción en cadena de la polimerasa digital en gotas (ddPCR), Ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA), Electroforesis capilar con dodecilsulfato sódico (CE-SDS), Cromatografía líquida de alta resolución: cromatografía de exclusión de tamaño (HPLC-SEC) Masa intacta de proteínas de la cápside mediante cromatografía líquida de espectrometría de masas (LC-MS)

F. Información sobre la liberación

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

DB-OTO se utilizará en un ensayo clínico para tratar una enfermedad.

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

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

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

<p>a) Localización geográfica (región administrativa y coordenadas de referencia cuando proceda):</p> <ul style="list-style-type: none"> - Clínica Universidad de Navarra, Pamplona - Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario Ramon y Cajal, Madrid - Hospital Universitario Materno Infantil en las Palmas de Gran Canaria, Gran Canaria
<p>b) Área del lugar (m²): N/P</p> <ul style="list-style-type: none"> i) lugar real de la liberación (m²): N/P ii) área de liberación más amplia (m²): N/P
<p>c) Proximidad a biotipos reconocidos internacionalmente o zonas protegidas (incluidos depósitos de agua potable) que pudieran verse afectados:</p> <p>N/P como DB-OTO se administrará en un ámbito hospitalario controlado.</p>
<p>d) Flora y fauna, incluidos cultivos, ganado y especies migratorias que pueden potencialmente interactuar con el OMG:</p> <p>N/P como DB-OTO se administrará en un ámbito hospitalario controlado.</p>

4. Método y amplitud de la liberación

<p>a. Cantidad de OMG que vaya a liberarse:</p> <p>El OMG se administra a seres humanos inscritos en un ensayo clínico en un ámbito hospitalario controlado y no está prevista su liberación. Basándose en la vía de administración intracocular, no se espera ninguna liberación, o se espera una mínima liberación, en forma de diseminación en cantidades que no pueden causar una infección significativa (CE, Buena Práctica en la evaluación de los aspectos relacionados con el OMG en el contexto de ensayos clínicos con vectores clínicos AAV).</p>
<p>b. Duración de la operación:</p> <p>DB-OTO se administrará como una inyección intracocular; se espera que el tiempo total de inyección sea de aproximadamente 16 minutos.</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>El OMG se introduce en el cuerpo humano y no se espera que se libere (véase la</p>

sección 4(a)).

DB-OTO será preparado y administrado por profesionales médicos formados a pacientes que hayan cumplido los criterios de entrada en el estudio y se hayan inscrito en el estudio. El transporte interno (es decir, dentro del centro clínico) tiene lugar de acuerdo con las directrices locales. Todos los residuos clínicos del procedimiento se eliminarán de acuerdo con la política local. Los procedimientos normalizados de trabajo para la eliminación dentro del centro médico serán coherentes con las directrices proporcionadas en el Manual de bioseguridad de laboratorio de la OMS, 3.a ed. (2004) para BSL1/2. En el centro médico, esto implicará la contención temporal en contenedores para objetos punzantes o en bolsas claramente marcadas (p. ej., peligro biológico, residuos médicos) antes de la esterilización en autoclave y/o incineración, o bien en el centro o bien fuera de él, según las directrices institucionales locales para la manipulación de materiales con riesgo biológico potencial.

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

No procede: dado que DB-OTO está preparado para su administración y se administra a los sujetos en un ámbito clínico, no se prevé que DB-OTO se libere en el entorno.

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

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 diana (si procede)

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

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

La hipótesis terapéutica de DB-OTO es que los vectores dobles de AAV1, administrados con 1 única inyección intracoclear por oído, pueden expresar niveles terapéuticos de proteína otoferlina en las células ciliadas internas de pacientes con mutaciones bialélicas diagnosticadas genéticamente de hOTOF y establecer la función auditiva.

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

DB-OTO se administrará en un ámbito de centro clínico y no tiene capacidad de replicación, por lo que es muy improbable que el OMG entre en contacto con otros organismos o con el medioambiente. Dado que DB-OTO no puede replicarse, el rasgo genético insertado no puede transferirse al medioambiente en general.

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:		
DB-OTO es un vector vírico sin capacidad de replicación y, por lo tanto, está en desventaja competitiva en comparación con cepas de AAV WT.		

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

DB-OTO es un vector AAV sin capacidad de replicación y no se espera que se extienda en el medioambiente en cantidades significativas.

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

Ninguno

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: Insignificante
b) De otros organismos al OMG: Insignificante
c) Consecuencias probables de la transferencia de genes: Insignificante

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

No se han realizado ni se consideran necesarios estudios específicos sobre el posible impacto ecológico de DB-OTO.

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

Que se sepa, DB-OTO no tiene impacto en los procesos biogeoquímicos.

H. Información sobre el seguimiento

1. Métodos de seguimiento de los OMG

Se realizará un análisis de diseminación en saliva, orina y heces para evaluar la concentración de genomas de vectores. Se extraerá sangre para evaluar la concentración de genomas de vectores.

2. Métodos de seguimiento de las repercusiones en el ecosistema

No hay planes específicos para monitorizar el entorno durante la liberación, aparte de monitorizar la diseminación viral de los participantes en ensayos clínicos, ya que no se espera que DB-OTO se libere en el medioambiente.

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

N/P

4. Tamaño del área de seguimiento (m2)

N/P

No hay planes específicos para monitorizar el entorno durante la liberación, aparte de monitorizar la diseminación viral de los participantes en ensayos clínicos, ya que no se espera que DB-OTO se libere en el medioambiente.

5. Duración del seguimiento

La diseminación vírica de los pacientes que reciban DB-OTO como parte del ensayo clínico se evaluará hasta 48 semanas después de la administración y, a continuación, en el seguimiento a largo plazo cada 12 meses desde la última visita hasta 4 años. Se recogen datos de la diseminación vírica hasta que 3 muestras consecutivas estén en el límite de detección o por debajo de este, o se estabilicen.

6. Frecuencia del seguimiento

Las muestras se tomarán de acuerdo con la sección del protocolo del estudio clínico “Apéndice 2: Calendario de evaluaciones”.

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

1. Tratamiento del lugar tras la liberación

Cualquier superficie contaminada con DB-OTO se descontaminará de acuerdo con las políticas y procedimientos específicos del centro aplicables, utilizando un desinfectante con eficacia validada contra AAV.

2. Tratamiento del OMG tras la liberación

La eliminación o inactivación de los restos de DB-OTO se realiza de forma coherente con la política local y la práctica estándar del centro para materiales potencialmente biopeligrosos.

3. (a) Tipo y cantidad de residuos producidos

Los desechos de OMG pueden consistir en viales, equipos de administración (tubos, jeringas, agujas y accesorios relacionados) y equipos de protección personal, tal como los lleva el personal clínico (p. ej., guantes, batas).

3. (b) Tratamiento de residuos

Todos los residuos generados (material en contacto con el OMG durante la preparación y administración de DB-OTO) se eliminarán de acuerdo con la política local. Los procedimientos normalizados de trabajo para la eliminación dentro del centro médico serán coherentes con las directrices proporcionadas en el Manual de bioseguridad de laboratorio de la OMS, 3.a ed. (2004) para BSL1/2. En el centro médico, esto implicará la contención temporal en contenedores para objetos punzantes o en bolsas claramente marcadas (p. ej., peligro biológico, residuos médicos) antes de la esterilización en autoclave y/o incineración, o bien en el centro o bien fuera de él, según las directrices institucionales locales para la manipulación de materiales con riesgo biológico potencial.

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 el caso de un derrame accidental de DB-OTO, cualquier superficie contaminada con DB-OTO se descontaminará de acuerdo con las políticas y procedimientos específicos del centro aplicables con un desinfectante con eficacia validada contra AAV.

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

Véase la Sección J.1.

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

N/P: la administración de DB-OTO tendrá lugar en un ámbito hospitalario controlado con personal formado. No será necesaria la descontaminación de 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

DB-OTO será administrado en centros de ensayos clínicos por profesionales sanitarios formados siguiendo las normas locales para la manipulación y eliminación de organismos modificados genéticamente y riesgos biológicos. Se

supervisará a todos los pacientes para detectar acontecimientos adversos según se detalla en el protocolo del ensayo clínico.

Teniendo en cuenta el riesgo insignificante para el medioambiente, no se consideran necesarios planes específicos para proteger el medioambiente.

References

- Baldo A, Van den Akker E, Bergmans H, et al. General Considerations on the Biosafety of Virus-derived Vectors Used in Gene Therapy and Vaccination. *Curr Gene Ther.* 2013;13:385-394.
- Berns KI, Bohenzky RA. Adeno-associated viruses: an update. *Adv Virus Res.* 1987;32:243-306.
- Deyle DR, Russell DW. Adeno-associated virus vector integration. *Curr Opin Mol Ther.* 2009;11(4):442-7.
- Dutheil N, Shi F, Dupressoir T, Linden RM. Adeno-associated virus site-specifically integrates into a muscle-specific DNA region. *PNAS.* 2000;97(9):4862-4866.
- European Commission Advanced Therapies webpage, [Buenas prácticas para la evaluación de aspectos relacionados con el OMG en el contexto de ensayos clínicos con vectores clínicos AAV.](#)