

PARTE 1 (DECISÃO 2002/813/CE DO CONSELHO)

MODELO DO RESUMO DE NOTIFICAÇÃO PARA A LIBERTAÇÃO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS QUE NÃO SEJAM PLANTAS SUPERIORES, EM CONFORMIDADE COM O ARTIGO 11º DA DIRETIVA 2001/18/CE

Para assinalar uma ou várias possibilidades, por favor utilizar cruces (assinalando com “x” ou “X”) no espaço para tal fornecido (.)

A. Informações gerais

1. Detalhes da notificação

- | | |
|---|------------|
| (a) Estado-Membro da notificação | Portugal |
| (b) Número de notificação | B/PT/21/03 |
| (c) Data de receção da notificação | 01/09/2021 |
| (d) Título do projeto | |
| Estudo clínico DTX301-CL301, “Estudo de fase 3 aleatorizado, em dupla ocultação, controlado por placebo, de transferência genética mediada por Vírus Adeno-Associado do Serotipo 8 (AAV8) da Ornitina Transcarbamilase Humana (OTC) em doentes com deficiência de OTC de início tardio” | |
| (e) Período de libertação proposto | |
| T4-2021 até ao fim do período de tratamento, T3-2022, dependendo do ponto temporal do recrutamento de doentes | |

2. Notificador

Nome da instituição ou empresa: Ultragenyx Pharmaceutical Inc.
60 Leveroni Ct
Novoto, CA 94949
EUA

3. Caracterização do OGM

(a) Indicar se o OGM é um:

- | | | |
|------------------|-----|--------------------------|
| Viroide | (.) | |
| vírus de ARN | (.) | |
| vírus de ADN | (X) | |
| bactéria | (.) | |
| fungo | (.) | |
| animal | | |
| - mamífero | (.) | |
| - inseto | (.) | |
| - peixe | (.) | |
| - outros animais | (.) | especificar filo, classe |
- outro, especificar (reino, filo e classe)

(b) Identificar o OGM (género e espécie)

Género: Dependoparvovirus

Espécie: Vírus adeno-associado, serotipo 8 (AAV8)

(c) Estabilidade genética – de acordo com o Anexo IIIa, II, A(10)

O AAV é um vírus de ADN de cadeia simples que demonstra um elevado grau de estabilidade genética, como evidenciado pela estreita relação entre os genes rep e cap de múltiplos serotipos e genótipos de AAV. Tipicamente, o gene rep mostra uma maior conservação da sequência do que as sequências de genes cap, mas frequentemente são > 90% e > 80% para os genes rep e cap, respetivamente. Em apoio a estes dados de homologia de sequência está o facto de o AAV utilizar uma polimerase de ADN do hospedeiro para a replicação viral que não é suscetível de erro quando comparada com as polimerases de ARN utilizadas pelos vírus de ARN. A estabilidade genética é suportada pela observação de que os episomas de ADN proviral de AAV isolados de múltiplas amostras de tecido humano têm consistentemente a sequência canónica esperada de AAV2 rep e cap.

Com base nestas características do AAV de tipo selvagem, espera-se também que o DTX301 seja altamente estável geneticamente. A sequência do genoma vetorial DTX301 é verificada por sequenciação direta.

4. Está prevista a mesma libertação de OGM noutras locais da Comunidade (em conformidade com o n.º 1 do artigo 6.º), pelo mesmo notificador?

Sim (X) Não (.)

Em caso afirmativo, inserir o(s) código(s) do(s) país(es) HR, FR, DE, IT, NL, PT, ES, GB

5. O mesmo OGM foi notificado para libertação noutra local da Comunidade pelo mesmo notificador?

Sim (X) Não (.)

Se sim:

- Estado-Membro da notificação ES, GB
- Número de notificação

Por favor, utilize os seguintes códigos de país:

Áustria AT; Bélgica BE; Alemanha DE; Dinamarca DK; Espanha ES; Finlândia FI; França FR; Reino Unido GB; Grécia GR; Irlanda IE; Islândia IS; Itália IT; Luxemburgo LU; Países Baixos NL; Noruega NO; Portugal PT; Suécia SE

6. O mesmo OGM foi notificado para libertação ou colocação no mercado fora da Comunidade pelo mesmo ou outro notificador?

Sim (X) Não (.)

Se sim:

- Estado-Membro da notificação EUA, Canadá
- Número de notificação: Reunião n.º NIH RAC 146, Protocolo n.º 1604-1520; NSN-18831, Protocolo 301OTC01

7. Resumo do potencial impacto ambiental da libertação dos OGM.

DTX301, o medicamento do estudo, é um vetor viral de vírus adeno-associado serotipo 8 (AAV8) recombinante não replicativo e autocomplementar, que codifica Ornitina transcarbamilase humana (OTC) para o tratamento de doentes com deficiência de OTC.

Não se espera que a libertação de DTX301, tal como descrita neste pedido, resulte em impacto ambiental adverso, pelas seguintes razões:

- Ausência de patogenicidade do vírus parental: Apesar de uma seroprevalência estimada até 80% para alguns serotipos humanos comuns, não foram identificados efeitos patogênicos de AAV.
- OGM sem capacidade de replicação: DTX301 é um vetor recombinante não infeccioso de AAV que carece de todos os genes virais de AAV e não se pode replicar sem funções auxiliares específicas de AAV e atividades de vírus auxiliares. A replicação DTX301 só poderia ocorrer no caso extremamente improvável de uma célula hospedeira ser infetada por três vírus separados (DTX301, AAV do tipo selvagem e um vírus auxiliar como o adenovírus humano ou o vírus herpes simplex). O risco de que isto ocorra é negligenciável.
- Risco mínimo de transmissão por excreção viral: O DTX301 pode teoricamente ser transmitido a outras pessoas que não participantes deste estudo. O mecanismo primário para a transferência seria a partir da excreção viral do vetor. O risco de transferência de vetores AAV para outros seres humanos ou animais é, porém, muito baixo. O DTX301 não é replicativo, não se pode propagar no ambiente e não é patogênico em humanos. Além disso, o tipo de célula-alvo é o hepatócito e a carga viral na saliva, urina e fezes espera-se ser baixa, tal como caracterizado através de estudos clínicos anteriores.
- Risco mínimo de mutagênese por inserção: Os riscos de mutagênese por inserção são considerados baixos a negligenciáveis, uma vez que a grande maioria do ADN vetorial de rAAV persiste como episomal ($\geq 99,5\%$) e não como ADN integrado.
- Expressão transgênica específica do fígado: O serotipo 8 do vírus adeno-associado, como AAV do clado E, tem um forte tropismo para o fígado e transduz o fígado de forma altamente eficiente quando administrado por via intravenosa. DTX301 codifica o gene OTC com expressão induzida tanto por um acentuassomo específico do fígado como por um promotor específico do fígado encapsulado dentro de um vetor AAV8, o que limita a expressão em células não alvo.
- Expressão transgênica em células não hepáticas: dado o tropismo hepático conhecido de Clade E AAV..
- Risco mínimo associado com o transgene: A cassete transgênica codifica o gene humano da OTC. Não foram inseridos no OGM quaisquer genes codificantes para toxinas, potenciais oncogenes ou outros genes que poderiam ser potencialmente prejudiciais.

B. Informações relativas ao organismo recetor ou parental do qual o OGM é derivado

1. Caracterização do organismo recetor ou parental:

(a) Indique se o organismo recetor ou parental é um:

(selecione apenas um)

Viroide (.)
 vírus de ARN (.)
 vírus de ADN (X)
 bactéria (.)
 fungo (.)
 animal

- mamífero (.)
 - inseto (.)
 - peixe (.)
 - outro animal (.)

(especificar filo, classe)

outro, especificar

2. Nome

- | | | |
|-------|---|-----------------------------|
| (i) | ordem e/ou grupo taxonómico superior (para animais) | vírus de ADN cadeia simples |
| (ii) | género | Dependoparvovírus |
| (iii) | espécie | Vírus Adeno-associado |
| (iv) | subespécie | N/A |
| (v) | estirpe | serotipo 8 |
| (vi) | patovar (biótipo, ecótipo, raça, etc.) | N/A |
| (vii) | nome comum | N/A |

3. Distribuição geográfica do organismo

- (a) Indígena do país onde a notificação é feita, ou de outra forma estabelecido no país em que a notificação é feita:

Sim (X) Não (.) Desconhecido (.)

- (b) Indígena de outros países da CE, ou estabelecido de outra forma:

(i) Sim (X)

Se sim, indicar o tipo de ecossistema em que se encontra:

Atlântico	X
Mediterrânico	X
Boreal	X
Alpino	X
Continental	X
Macaronésio	X

(ii) Não (.)

(iii) Desconhecido (.)

- (c) É frequentemente usado no país onde a notificação é feita?

Sim (.) Não (X)

- (d) É frequentemente mantido no país onde a notificação é feita?

Sim (.) Não (X)

4. Habitat natural do organismo

- (a) Se o organismo for um micro-organismo

água (.)

solo, a viver independentemente (.)

solo em associação com sistemas radiculares de plantas (.)

em associação com folhas/caules de plantas (.)

outro, especificar Em associação com animais (hospedeiros primatas)

- (b) Se o organismo for um animal: habitat natural ou agroecossistema habitual:

Não aplicável.

5. (a) Técnicas de deteção
AAV pode ser detetado por amplificação do ADN usando métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) (PCR digital de gotículas (ddPCR) ou PCR quantitativa (qPCR)), usando iniciadores específicos para o genoma viral.
- (b) Técnicas de identificação
AAV pode ser identificado por amplificação do ADN usando métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) (PCR digital de gotículas (ddPCR) ou PCR quantitativa (qPCR)), usando iniciadores específicos para o genoma viral e por sequenciação.
6. O organismo recetor está classificado segundo as normas comunitárias existentes relativas à proteção da saúde humana e/ou do ambiente?
Sim (.) Não (X)

Se sim, especificar

Informações adicionais:

O AAV do tipo selvagem não é patogénico e não foi classificado ao abrigo da Diretiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 18 de setembro de 2000, relativa à proteção dos trabalhadores contra riscos ligados à exposição a agentes biológicos no trabalho. O AAV não tem efeitos patogénicos conhecidos, embora a seroprevalência estimada de alguns serotipos humanos comuns seja de até 80%. Consequentemente, o AAV cumpre a definição de um agente biológico do grupo de risco 1 de acordo com a Diretiva 2000/54/CE (um agente biológico que é pouco provável que cause doenças em seres humanos).

7. O organismo recetor é significativamente patogénico ou nocivo de qualquer outra forma (incluindo os seus produtos extracelulares), vivo ou morto?
Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Se sim:

- (a) para que organismos:

seres humanos (.)
animais (.)
plantas ()
outros (.)

- (b) fornecer as informações pertinentes especificadas no Anexo III A, ponto II. (A)(11)(d) da Diretiva 2001/18/CE

8. Informações relativas à reprodução

- (a) Tempo de geração nos ecossistemas naturais: O AAV tem uma replicação deficiente, pelo que o tempo de geração é variável em função da presença ou ausência de um vírus auxiliar.
- (b) Tempo de geração no ecossistema onde a libertação terá lugar: O AAV tem uma replicação deficiente, pelo que o tempo de geração é variável em função da presença ou ausência de um vírus auxiliar
- (c) Modo de reprodução: Sexual N/A Assexual N/A

- (d) Fatores que afetam a reprodução:
A presença de um vírus auxiliar, como o adenovírus ou o vírus do herpes simplex, promove a expressão dos genes de AAV, a replicação do genoma e a produção de viriões. Na ausência de um vírus auxiliar, o AAV do tipo selvagem é incompetente para a replicação. Note-se que o OGM final, DTX301, é incompetente para a replicação mesmo na presença de um vírus ajudante devido à remoção dos genes de rep viral e cap.

9. Sobrevivência

- (a) capacidade de formar estruturas que aumentem a sobrevivência ou a dormência:

- | | | |
|--------|-----------------------------|---|
| (i) | endosporos | (.) |
| (ii) | quistos | (.) |
| (iii) | esclerócios | (.) |
| (iv) | esporos assexuados (fungos) | (.) |
| (v) | esporos sexuados (fungos) | (.) |
| (vi) | ovos | (.) |
| (vii) | pupas | (.) |
| (viii) | larvas | (.) |
| (ix) | outros, especificar | O AAV não forma estruturas de sobrevivência |

- (b) fatores relevantes que afetam a capacidade de sobrevivência:

Parvovírus como o AAV são vírus estáveis que podem persistir no ambiente durante longos períodos de tempo (pensa-se que seja da ordem de várias semanas). As partículas de AAV são resistentes a uma vasta gama de pH (pH 3-9) e podem resistir a temperaturas elevadas (55°C durante 1 hora). O AAV não forma estruturas de sobrevivência. Contudo, como acontece com todos os vírus, a replicação de AAV não pode ocorrer fora de uma célula hospedeira.

10. (a) Formas de disseminação

O AAV pode ser transmitido através de contacto direto ou indireto. O AAV pode ser transmitido através de inalação, ingestão e possivelmente transmissão sexual.

- (b) Fatores que afetam a disseminação

A replicação do vírus parental (AAV do tipo selvagem) só é possível em células hospedeiras que tenham sido coinfectadas com um vírus auxiliar (por exemplo, adenovírus, vírus herpes simplex).

11. Modificações genéticas anteriores do organismo recetor ou parental já notificado para libertação no país onde a notificação é feita (fornecer números de notificação)
Não aplicável.

C. **Informações relativas à modificação genética**

1. Tipo de modificação genética

- | | | |
|-------|-------------------------------|-----|
| (i) | inserção de material genético | (X) |
| (ii) | deleção de material genético | (X) |
| (iii) | substituição de base | (.) |
| (iv) | fusão celular | (.) |
| (v) | outros, especificar | |

2. Resultado pretendido da modificação genética

O resultado pretendido da modificação genética foi gerar um vetor AAV recombinante contendo uma cassete de expressão da OTC humana para o tratamento de doentes com deficiência de OTC. DTX301 codifica o gene OTC com expressão induzida tanto por um acentuassomo específico do fígado como por um promotor específico do fígado encapsulado dentro de um vetor AAV8. AAV8, como AAV do clado E, tem um forte tropismo para o fígado e transduz o fígado de forma altamente eficiente quando administrado por via intravenosa. Espera-se, assim, que a administração de DTX301 resulte na expressão do gene OTC no fígado dos participantes do estudo. O DTX301 é não patogénico. O genoma vetorial DTX301 só poderia replicar-se sob a circunstância presumivelmente rara em que uma única célula é infetada simultaneamente por DTX301, tipo selvagem AAV e um vírus auxiliar (infecção tripla). Além disso, haveria concorrência entre os vírus selvagens de tipo AAV e rAAV em relação aos recursos de replicação celular e viral, o que provavelmente favoreceria a evolução do vírus de tipo selvagem

3. (a) O vetor foi utilizado no processo de modificação?

Sim (X) Não (.)

Se não, continue para a pergunta 5.

(b) Se sim, o vetor está total ou parcialmente presente no organismo modificado?

Sim (X) Não (.)

Se não, continue para a pergunta 5.

4. Se a resposta a 3(b) for sim, forneça as seguintes informações

(a) Tipo de vetor

plasmídeo (X)
bacteriófago (.)
vírus (.)
cosmídeo (.)
elemento transponível (.)
outro, especificar

(b) Identidade do vetor
pDTX.hOTCco.301

(c) Gama de hospedeiros do vetor
Bactérias, células de mamíferos

(d) Presença no vetor de sequências que dão um fenótipo selecionável ou identificável
Sim (X) Não (.)

resistência a antibióticos (X)
outro, especificar

Indicação de qual gene de resistência a antibióticos inserido
Canamicina

- (e) Fragmentos constituintes do vetor
 pDTX.hOTCco.301 contém a cassette de expressão de OTC. A cassette de expressão consiste num promotor e acentuassomo específicos do fígado, um transgene OTC de codões otimizados e um sinal de poliadenilação, ladeado por repetições terminais invertidas (ITR) de AAV. Apenas a cassette de expressão de OTC está presente no OGM final. Além disso, o vetor contém uma origem bacteriana de replicação e o gene de resistência à canamicina para permitir a propagação do plasmídeo em *E.coli*.
- (f) Método para introduzir o vetor no organismo recetor
- (i) transformação (.)
 - (ii) eletroporação (.)
 - (iii) macroinjeção (.)
 - (iv) microinjeção (.)
 - (v) infeção (.)
 - (vi) outros, especificar A tripla transfeção de células de empacotamento com pDTX.hOTCco.301 e dois plasmídeos auxiliares [o plasmídeo auxiliar AAV contendo os genes AAV2 rep e AAV8 cap do tipo selvagem, o plasmídeo pAAV2-8.KanR (p2123-FH), e um plasmídeo adenovírus auxiliar pAdDeltaF6(Kan)], resultando na produção de partículas AAV recombinantes.

5. Se a resposta à pergunta B.3(a) e (b) for não, qual foi o método usado no processo de modificação?

- (i) transformação (.)
- (ii) microinjeção (.)
- (iii) microencapsulação (.)
- (iv) macroinjeção (.)
- (v) outro, especificar (.)

6. Composição do inserto

- (a) Composição do inserto
 O inserto consiste num promotor e acentuassomo específicos do fígado, um transgene OTC de codões otimizados e um sinal de poliadenilação, ladeado por repetições terminais invertidas (ITR) de AAV.
- (b) Fonte de cada parte constituinte do inserto
- Promotor e acentuassomo específico do fígado: *homo sapiens*
 - Gene OTC: *homo sapiens*
 - Sinal de poliadenilação: SV40
 - ITR: AAV
- (c) Função pretendida de cada parte constituinte do inserto no OGM
- Promotor e acentuassomo específico do fígado: Destinado a controlar elevados níveis de expressão genética OTC específica do fígado
 - Gene OTC: Espera-se que a transferência de genes OTC seja eficaz no tratamento da deficiência de OTC, dado que a doença é causada por mutações dentro deste gene que afetam a expressão ou atividade da proteína OTC.
 - Sinal de poliadenilação: Destina-se a fornecer sequências cis para a poliadenilação eficiente do ARNm de hOTC. Este elemento funciona como um sinal para um

evento de clivagem específico no terminal 3' da transcrição nascente e adição de uma cauda poliadenilada.

- ITR: Necessário para replicação e empacotamento do genoma do vetor.

(e) Localização do inserto no organismo hospedeiro

- num plasmídeo livre (.)
- integrado no cromossoma (.)
- outro, especificar genoma viral de ADN de cadeia simples

(f) O inserto contém partes cujo produto ou função não sejam conhecidos?

Sim (.) Não (X)

Se sim, especificar

D. Informações sobre o(s) organismo(s) do(s) qual(ais) deriva o inserto

1. Indique se é um:

viroide (.)

vírus de ARN (.)

vírus de ADN (.)

bactéria (.)

fungo (.)

animal

- mamífero (X)

- inseto (.)

- peixe (.)

- outro animal (.)

(especificar filo, classe)

outro, especificar

2. Nome completo

(i) ordem e/ou grupo taxonómico superior (para animais) Primatas

(ii) nome de família para plantas N/A

(iii) género homo

(iv) espécie *sapiens*

(v) subespécie N/A

(vi) estirpe N/A

(vii) cultivar/linhagem N/A

(viii) patovar N/A

(ix) nome comum Homem

3. O organismo é significativamente patogénico ou nocivo de qualquer outra forma (incluindo os seus produtos extracelulares), vivo ou morto?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Se sim, especifique o seguinte:

(a) para que organismos:

seres humanos (.)

animais (.)

plantas (.)

outro ..

- (b) as sequências doadas estão envolvidas de alguma forma nas propriedades patogênicas ou prejudiciais do organismo
Sim (.) Não (.) Desconhecido (.)

Se sim, fornecer as informações pertinentes especificadas no Anexo III A, ponto II(A)(11)(d):
N/A

4. O organismo dador está classificado segundo as normas comunitárias existentes relativas à proteção da saúde humana e do ambiente, tais como a Diretiva 90/679/CEE relativa à proteção dos trabalhadores contra os riscos de exposição a agentes biológicos durante o trabalho?

Sim (.) Não (X)

Se sim, especificar

5. O organismo dador e recetor trocam material genético naturalmente?

Sim (X) Não (.) Desconhecido (.)

E. Informações relacionadas com o organismo geneticamente modificado

1. Traços genéticos e características fenotípicas do organismo recetor ou parental que tenham sido alterados como resultado da modificação genética

- (a) o OGM é diferente do recetor no que diz respeito à sobrevivência?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especifique

- (b) o OGM difere de alguma forma do recetor no que diz respeito ao modo e/ou taxa de reprodução?

Sim (X) Não (.) Desconhecido (.)

Especifique

O genoma viral DTX301 foi significativamente modificado em comparação com o vírus parental, de modo a torná-lo incompetente para a replicação. Os genes AAV rep e cap foram substituídos por uma cassete de expressão eucariótica e apenas as sequências ITR virais, que são sequências de ADN não codificantes (< 300 pb), foram retidas. Assim, o DTX301 não contém genes virais nativos.

O AAV de tipo selvagem requer a presença de um vírus auxiliar como o adenovírus humano ou o vírus do herpes simplex para se replicar. O genoma vetorial DTX301 só poderia replicar-se sob a circunstância presumivelmente rara em que uma única célula é infetada simultaneamente por DTX301, tipo selvagem AAV e um vírus auxiliar (infecção tripla). Além disso, haveria concorrência entre os vírus selvagens de tipo AAV e rAAV em relação aos recursos de replicação celular e viral, o que provavelmente favoreceria a evolução do vírus de tipo selvagem.

- (c) o OGM é de alguma forma diferente do recetor no que diz respeito à disseminação?

Sim (X) Não (.) Desconhecido (.)

Especifique

Como a replicação DTX301 só poderia ocorrer no caso extremamente improvável de uma célula hospedeira ser infetada por três vírus separados, a probabilidade de disseminação é menor do que a do AAV de tipo selvagem.

- (d) o OGM é de alguma forma diferente do recetor no que diz respeito à patogenicidade?
Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Especifique

Não são conhecidos efeitos patogénicos do AAV do tipo selvagem nos seres humanos. Não se espera que a introdução da cassette de expressão de OTC resulte no desenvolvimento da patogenicidade. Assim, nem o tipo selvagem AAV nem o DTX301 são conhecidos ou esperados como patogénicos.

2. Estabilidade genética do organismo geneticamente modificado

O AAV é um vírus de ADN isolado que demonstra um elevado grau de estabilidade genética; com base nisto, espera-se também que o DTX301 seja geneticamente estável. A integridade da cassette de expressão de OTC será confirmada por sequenciação direta.

3. O OGM é significativamente patogénico ou nocivo de qualquer forma (incluindo os seus produtos extracelulares), vivo ou morto?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

(a) para quais dos seguinte organismos?

seres humanos (.)
animais (.)
plantas (.)
outros (.)

(b) forneça as informações pertinentes especificadas no Anexo III A, ponto II(A)(11)(d) e II(C)(2)(i)

4. Descrição dos métodos de identificação e deteção

(a) Técnicas utilizadas para detetar o OGM no ambiente

DTX301 pode ser detetado por amplificação do ADN usando métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) (PCR digital de gotículas (ddPCR) ou PCR quantitativa (qPCR)) usando iniciadores específicos para o transgene.

(b) Técnicas utilizadas para identificar o OGM

DTX301 pode ser identificado por amplificação do ADN usando métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR) (PCR digital de gotículas (ddPCR) ou PCR quantitativa (qPCR)) usando iniciadores específicos para o transgene.

F. Informações relacionadas com a libertação

1. Objetivo da libertação (incluindo quaisquer benefícios ambientais potenciais significativos que possam ser esperados)

O DTX301-CL301 é um estudo de fase 3, multicêntrico, aleatório, em dupla ocultação, controlado por placebo para determinar a eficácia e confirmar a segurança de DTX301 em doentes com idade igual ou superior a 12 anos com deficiência OTC tardia. O objetivo primário do estudo é avaliar a eficácia de DTX301 na melhoria da função da ornitina transcarbamilase (OTC), mantendo os níveis seguros de amónia no plasma.

2. O local da libertação é diferente do habitat natural ou do ecossistema em que o organismo recetor ou parental é regularmente utilizado, mantido ou encontrado?

Sim (.) Não (X)

Se sim, especificar

O habitat natural do AAV8 de tipo selvagem são as células hospedeiras de primatas. O DTX301 será administrado a seres humanos no contexto do estudo clínico DTX301-CL301.

3. Informações sobre a libertação e a área circundante

- (a) Localização geográfica (região administrativa e, quando apropriado, referência em planta):

Centro 1: Centro Hospitalar Universitário de São João, E.P.E.

Alameda Professor Hernâni Monteiro

4200-319

Porto

- (b) Tamanho do centro (m²):

(i) local real de libertação (m²): Não aplicável. Um tamanho específico para o local de libertação não pode ser definido dado que DTX301 será administrado aos doentes como parte de um ensaio clínico.

(ii) local de libertação mais abrangente (m²): Não aplicável. Um tamanho específico para o local de libertação não pode ser definido dado que DTX301 será administrado aos doentes como parte de um ensaio clínico.

- (c) Proximidade a biótopos ou áreas protegidas reconhecidas internacionalmente (incluindo reservatórios de água potável), que podem ser afetados:

Não aplicável. O DTX301 será administrado numa única perfusão IV em ambiente hospitalar. Não se prevê, portanto, o contacto com quaisquer biótopos ou áreas protegidas reconhecidas.

- (d) Flora e fauna, incluindo culturas, gado e espécies migratórias que podem potencialmente interagir com o OGM

A administração do DTX301 ocorrerá apenas dentro de um ambiente hospitalar controlado; portanto, não se prevê que venha a entrar em contacto com plantas, animais ou solo.

4. Método e quantidade libertada

- (a) Quantidades de OGM a libertar:

A dosagem é baseada no peso corporal do doente. O DTX301 será administrado numa dose de $1,7 \times 10^{13}$ cópias do genoma (GC)/kg.

- (b) Duração da operação:

A duração do estudo é definida para cada participante, uma vez que a data da assinatura do consentimento informado por escrito é fornecida através da consulta na semana 128.

- (c) Métodos e procedimentos para evitar e/ou minimizar a disseminação dos OGM para além do local da libertação

O DTX301 será armazenado, preparado e administrado por profissionais médicos formados, num ambiente hospitalar apenas a doentes que cumpram os critérios para inclusão no estudo clínico, DTX301-CL301. O pessoal seguirá as políticas de resíduos e eliminação, de acordo com os requisitos locais para eliminar os consumíveis utilizados na preparação e administração do OGM. Quando permitido, os frascos utilizados e não utilizados de DTX301 serão retidos no local do estudo até que a responsabilidade pelo medicamento em estudo tenha sido executada pelo Clinical Research Associate (PPD). Se a destruição não for permitida no local, os frascos não utilizados serão devolvidos às instalações de fabrico que libertaram o produto, de

acordo com os requisitos padrão para o ME e conforme especificado no Manual de Farmácia.

DTX301 é um Medicamento Experimental (ME) fabricado e lançado por uma Pessoa Qualificada (QP) na Europa, para utilização em ensaios clínicos depois de cumprir a especificação definida em termos de qualidade e segurança do produto para administração a seres humanos, de acordo com o protocolo de estudo clínico. Além disso, é utilizado e aprovado de acordo com o protocolo de estudo clínico tanto pelas agências regulamentares como pela Comissão de Ética no país onde o estudo vai ser realizado. Por esta razão, a cadeia de fornecimento do ME e a sua gestão no local é regida no contexto dos regulamentos de ensaios clínicos, legislação local, e diretrizes relevantes para receber, armazenar, manusear, distribuir, contabilizar, e devolver o ME. O Manual de Farmácia e material de formação do estudo localizado nos centros fornecem ao pessoal da farmácia e ao pessoal médico clínico instruções sobre a utilização, armazenamento e destruição do ME. Também incluem instruções para documentar o controlo do ME desde a receção no centro do ensaio até à responsabilidade final e destruição ou devolução. Além disso, descreve os processos necessários para gerir e documentar os desvios, tais como variações de temperatura e as reclamações técnicas do medicamento relatadas serão transferidas para os centros por pessoal treinado na expedição de medicamentos. Os riscos relacionados com a libertação no ambiente do OGM ou riscos para o pessoal, em caso de violação da integridade do contentor e/ou armazenamento ou derrame acidental no local ou durante o transporte/armazenamento são considerados negligenciáveis. O OGM só será tratado por pessoal delegado e treinado e, no caso de ocorrer um derrame, o produto é não patogénico e não replicante, limitando a propagação e os riscos para o ambiente ou para o pessoal.

Embora o risco de transmissão vertical do vetor AAV seja baixo e um estudo não clínico recente tenha demonstrado a ausência de qualquer transmissão germinal, os participantes do estudo sexualmente ativos terão de utilizar um método eficaz de contraceção durante 64 semanas após a administração do DTX301; devido ao desenho do estudo controlado por placebo em dupla ocultação, todos os participantes deste estudo deverão utilizar contraceção adequada até à consulta da semana 128.

Os doentes receberão DTX301 por uma única perfusão IV num ambiente clínico e só terão alta 24 horas após a administração de DTX301, limitando assim a probabilidade de exposição de membros da família. Como o DTX301 não é replicante, as partículas virais excretadas não se podem multiplicar; a disseminação do OGM é assim inerentemente limitada.

Com base nos resultados consistentemente baixos de excreção vetorial viral e no período geralmente curto de cópias detetáveis demonstrado no estudo de fase 1/2 do DTX301, apoiado por padrões semelhantes de excreção de DTX401 (terapia genética AAV8 para a doença de armazenamento de glicogénio Ia (GSDIa)), a recolha contínua de dados de excreção vetorial viral não está planeada em estudos futuros. O vetor do vírus adeno-associado (AAV) não se integra no ADN e não se reproduz por si só, também não é conhecido por causar infeção em seres humanos. Por conseguinte, a disseminação do vetor AAV é considerada de risco insignificante para o ambiente e outras pessoas que entrem em contacto com indivíduos tratados com DTX301.

5. Breve descrição das condições ambientais médias (clima, temperatura, etc.) Não aplicável. A administração do DTX301 ocorrerá apenas dentro de um ambiente hospitalar controlado.

6. Dados relevantes relativos a libertações anteriores feitas com o mesmo OGM, caso exista, especialmente relacionados com os potenciais impactos ambientais e na saúde humana decorrentes da libertação. O DTX301 não foi previamente libertado no ambiente.

G. Interações do OGM com o ambiente e potencial impacto sobre o ambiente, se significativamente diferente do organismo recetor ou parental

1. Nome do organismo alvo (se aplicável)

(i) ordem e/ou grupo taxonómico superior (para animais)	Primatas
(ii) nome de família para plantas	N/A
(iii) género	homo
(iv) espécie	<i>sapiens</i>
(v) subespécie	N/A
(vi) estirpe	N/A
(vii) cultivar/linhagem	N/A
(viii) patovar	N/A
(ix) nome comum	Homem

2. Mecanismo antecipado e resultado da interação entre os OGM libertados e o organismo alvo (se aplicável)

O DTX301 codifica o gene OTC com expressão induzida tanto por um acentuassomo específico do fígado como por um promotor específico do fígado, encapsulado dentro de um vetor AAV8. AAV8, como AAV do clado E, tem um forte tropismo para o fígado e transduz o fígado de forma altamente eficiente quando administrado por via intravenosa. Espera-se, assim, que a administração de DTX301 resulte na expressão do gene OTC no fígado dos participantes do estudo. Espera-se que a transferência de genes OTC seja eficaz no tratamento da deficiência de OTC, dado que a doença é causada por mutações dentro deste gene que afetam a expressão ou atividade da proteína OTC.

3. Quaisquer outras interações potencialmente significativas com outros organismos no ambiente. Outras pessoas para além dos participantes que recebem o medicamento não serão expostas a níveis de DTX301 que possam representar um risco potencial. Os perigos potenciais de exposição ao DTX301 são baseados na administração sistémica do DTX301. A exposição mínima, tal como a exposição ambiental, a organismos que não os indivíduos que recebem DTX301 como parte do estudo, não seria de dose suficiente para representar expressão genética significativa ou potenciais riscos de segurança em seres humanos. Uma vez que o DTX301 é também incompetente em termos de replicação, espera-se que o vetor seja rapidamente eliminado de quaisquer organismos não alvo sem causar quaisquer efeitos nocivos. Além disso, a expressão transgénica é concebida para ocorrer em hepatócitos. Para além de potenciais hospedeiros humanos, não se espera que a exposição ao DTX301 afete quaisquer organismos não alvo, quer direta, quer indiretamente.

4. É provável que ocorra uma seleção pós-libertação, tal como o aumento da competitividade, o aumento da invasividade para o OGM?

Sim (.) Não (X) Desconhecido (.)

Forneça detalhes

Como o DTX301 não tem capacidade replicativa, a seleção pós-libertação não pode ocorrer.

5. Tipos de ecossistemas para os quais o OGM poderia ser disseminado a partir do local de libertação e nos quais poderia ser estabelecido

Como o DTX301 não é capaz de se reproduzir, não se espera que se espalhe para o ambiente a um grau significativo, e não se espera que se estabeleça em nenhum ecossistema.

6. Nome completo dos organismos não alvo que (tendo em conta a natureza do meio recetor) podem ser involuntariamente prejudicados de forma significativa pela libertação do OGM

(i)	ordem e/ou grupo taxonómico superior (para animais)	N/A
(ii)	nome de família para plantas	N/A
(iii)	género	N/A
(iv)	espécie	N/A
(v)	subespécie	N/A
(vi)	estirpe	N/A
(vii)	cultivar/linhagem	N/A
(viii)	patovar	N/A
(ix)	nome comum	N/A

7. Probabilidade de intercâmbio genético in vivo

(a) do OGM para outros organismos no ecossistema de libertação:

Espera-se que o genoma viral DTX301 seja transferido para hepatócitos dentro do fígado dos doentes inscritos no estudo DTX301-CL301. Espera-se que a grande maioria dos genomas vetoriais do DTX301 dentro das células sujeitas seja episomal, em vez de integrado no ADN da célula hospedeira. Como o DTX301 não é replicante, e apenas se espera que seja excretado nos fluidos corporais dos participantes do estudo numa extensão limitada, a transmissão e transferência genética para outros organismos que não os participantes do estudo é considerada improvável.

(b) De outros organismos para o OGM:

A eliminação de 94% do ADN viral reduz a probabilidade de recombinação homóloga com vírus relacionados que poderiam levar a variantes do OGM.

(c) consequências prováveis da transferência de genes:

Embora a recombinação entre DTX301 e um AAV de tipo selvagem para gerar um genoma vetorial híbrido que contém tanto a cassette de expressão de OTC como os genes de AAV rep e cap continue a ser uma possibilidade teórica, tal molécula, mesmo que gerada numa célula não se replicaria, a menos que também estivesse presente um vírus auxiliar de adenovírus/herpervírus. Além disso, um tal genoma híbrido seria demasiado grande para empacotar o ADN híbrido numa partícula de AAV. Sabe-se que a AAV possui um limite de empacotamento de aproximadamente 5 kb (Wu 2010), e prevê-se que uma molécula híbrida de genes rep-cap mais a cassette de expressão OTC seja superior a este limite. Os riscos associados à transferência de genes do AAV do tipo selvagem para o DTX301 são assim considerados negligenciáveis.

8. Forneça referências de resultados relevantes (se disponíveis) de estudos do comportamento e características do OGM e do seu impacto ecológico realizado em ambientes naturais estimulados

(por exemplo, microcosmos, etc.):

Não foram realizados estudos deste tipo para o DTX301.

9. Possíveis interações ambientais significativas com processos biogeoquímicos (se diferentes do organismo recetor ou parental).

Não se sabe nem se prevê que o DTX301 tenha um impacto nos processos biogeoquímicos.

H. Informações relativas à monitorização

1. Métodos de monitorização dos OGM

Os métodos para monitorizar os efeitos do DTX301 incluem tanto avaliações de segurança como avaliações de eficácia.

2. Métodos de monitorização dos efeitos do ecossistema
Não aplicável; DTX301 é um vetor de AAV não replicante e, portanto, o risco de transmissão vertical é negligenciável
3. Métodos para detetar a transferência do material genético doado do OGM para outros organismos
A transferência da cassete de expressão de OTC para os participantes do estudo será detetada através da avaliação da atividade de OTC utilizando leituras clínicas apropriadas.
4. Tamanho da área de monitorização (m²)
Não aplicável; DTX301 é um vetor de AAV não replicante e, portanto, o risco de transmissão vertical é negligenciável.
5. Duração da monitorização
Não aplicável; DTX301 é um vetor de AAV não replicante e, portanto, o risco de transmissão vertical é negligenciável
6. Frequência da monitorização
Não aplicável; DTX301 é um vetor de AAV não replicante e, portanto, o risco de transmissão vertical é negligenciável.

I. Informações sobre pós-libertação e tratamento de resíduos

1. Tratamento pós-libertação do centro
Quaisquer superfícies contaminadas com DTX301 serão desinfetadas de acordo com as leis locais e procedimentos institucionais relacionados com a gestão de substâncias biológicas perigosas e utilizando um desinfetante eficaz contra AAV (por exemplo, hipoclorito de sódio a 1%, glutaraldeído a 2%, sulfato de sódio a 0,25%).
2. Tratamento pós-libertação dos OGM
Todos os materiais descartáveis que entram em contacto com o medicamento experimental serão eliminados de acordo com as práticas e políticas institucionais individuais para a eliminação e descontaminação dos resíduos biodegradáveis. Em geral, os materiais descartáveis serão eliminados em contentores de material cortante ou sacos de risco biológico e descontaminados por autoclavagem ou incineração, ou ambos. Os materiais não descartáveis serão descontaminados de acordo com práticas e procedimentos institucionais, por exemplo, através de tratamento com um desinfetante e/ou autoclavagem adequados.

Quando permitido, os frascos utilizados e não utilizados de DTX301 serão retidos no local do estudo até que a responsabilidade pelo medicamento em estudo tenha sido executada pelo Clinical Research Associate. Se a destruição não for permitida no local, os frascos não utilizados serão devolvidos às instalações de fabrico que libertaram o produto, de acordo com os requisitos padrão para o ME e conforme especificado no Manual de Farmácia.

3. (a) Tipo e quantidade de resíduos gerados
São previstos os seguintes tipos de resíduos:
 - Frascos de vidro contendo DTX301. O número de frascos de DTX301 necessários por doente depende da coorte de dose e do peso corporal do doente.

- Materiais utilizados para a preparação e administração do produto do estudo, por exemplo saco salino, conjunto de administração IV, seringas, agulhas
- Equipamento de proteção pessoal, p. ex., luvas

3. (b) Tratamento de resíduos

Todos os materiais descartáveis que entram em contacto com o medicamento experimental serão eliminados de acordo com as práticas e políticas institucionais individuais. Por exemplo, os materiais são eliminados em contentores de material cortante ou sacos de risco biológico e descontaminados por autoclavagem ou incineração, ou ambos. Os resíduos líquidos serão descontaminados e descartados de acordo com a prática institucional.

J. Informações sobre planos de resposta de emergência

1. Métodos e procedimentos para controlar a disseminação do(s) OGM(s) em caso de disseminação inesperada

No caso do conteúdo do(s) frasco(s) DTX301 ou produto(s) diluído(s) para perfusão ser acidentalmente libertado e entrar em contacto com materiais de expedição, superfícies de farmácia/hospitalares, o derrame será descontaminado e removido de acordo com a prática institucional.

O DTX301 é armazenado em frascos de vidro. O pessoal será informado de que se deve ter cuidado na manipulação de frascos e que o uso de agulhas deve ser mantido a um nível mínimo. Em caso de lesão, o pessoal seguirá os procedimentos institucionais locais.

Em caso de contacto acidental do DTX301 com pele, olhos ou vestuário, o pessoal seguirá procedimentos institucionais para a gestão de material de risco biológico

2. Métodos de remoção do(s) OGM(s) das áreas potencialmente afetadas

Qualquer superfície exposta ao OGM será desinfetada utilizando desinfetante apropriado, de acordo com as leis e políticas e procedimentos institucionais locais.

3. Métodos de eliminação ou saneamento de plantas, animais, solos, etc., que possam ser expostos durante ou após a propagação.

A administração do DTX301 ocorrerá apenas dentro de um ambiente hospitalar controlado; portanto, não se prevê que venha a entrar em contacto com plantas, animais ou solo. Além disso, o DTX301 não é capaz de infetar plantas ou micróbios.

4. Planos de proteção da saúde humana e do ambiente no caso de um efeito indesejável

O pessoal seguirá a legislação local e os procedimentos institucionais para a manipulação e eliminação de organismos geneticamente modificados. Além disso, as recomendações de segurança e orientações sobre a gestão de incidentes relacionados com o DTX301 são fornecidas nas instruções de segurança para investigadores e pessoal incluído nesta submissão. Todos os doentes serão cuidadosamente monitorizados em relação a quaisquer reações adversas durante este estudo. Um comité independente de monitorização de dados (DMC) será responsável pela monitorização dos dados de segurança do estudo. O DMC pode, em qualquer altura, recomendar a modificação ou a interrupção antecipada do estudo devido a preocupações de segurança baseadas na revisão dos dados.