NOTIFICACIÓN SOBRE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE

1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1 Entidad responsable de la actividad Entidad
- Nombre: **IRTA-CReSA (Institut de Recerca i Tecnología Agroalimentàries**
- Dirección postal: **Torre Marimon, Crt C-59 km 12,1; 08140, Caldes de Montbui.**

1.2 Representante legal de la entidad
- Nombre y apellidos: **Josep Usall Rodié**
- NIF: ----------
- Cargo: **Director General**
- Tel: (+34) 934.674.040
- Correo electrónico: **josep.usall@irta.cat**

1.3 Persona de contacto.
- Nombre y apellidos: **Xavier Abad Morejón de Girón**
- Cargo: **Jefe de la Unidad de Biocontención y Laboratorios NBS2**
- Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1712**
- Correo electrónico: **xavier.abad@irta.cat**

1.4 Responsable científico de la actividad
- Nombre y apellidos: **Jordi Argilaguet Marquès**
- NIF: ----------
- Cargo: **Investigador**
- Tel: (+34) 93.467.40.40
- Correo electrónico: **jordi.argilaguet@irta.cat**

1.5 Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad
- Nombre y apellidos: **Xavier Abad Morejón de Girón**
- NIF: ----------
- Cargo: **Jefe de la Unidad de Biocontención y Laboratorios NBS2**
- Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1712**
- Correo electrónico: **xavier.abad@irta.cat**

2. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

2.1 Debe señalarse si la actividad se corresponde con un supuesto que deriva de la Ley 14/2011, de 1 de junio, de la Ciencia y la Innovación. En cuyo caso se debe indicar si recibe financiación a través de las actuaciones (planes, programas, etc.) que forman parte de la Estrategia Española de Ciencia, Tecnología e Innovación (Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica). Esta información es necesaria para determinar si la actividad se encuentra dentro del supuesto del artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003 y, por lo tanto, verificar si se ajusta a la exención prevista en el artículo 29.4 de la misma Ley.

PLAZA DE SAN JUAN DE LA CRUZ, 10
28071 MADRID
TEL.: 91 597 56 50

SI ☒ NO ☐

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando[1]**:**

2.1.1. Nombre de la convocatoria:

Proyecto de Generación de Conocimiento 2023 Investigación Orientada Tipo B.

2.1.2. Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

Marcadores moleculares de la virulencia del VPPA con la perspectiva del desarrollo de vacunas; PID2023-151591OB-I00, IP: Yolanda Revilla Novella.

2.1.3. Organismo financiador:

Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

2.2 Otro tipo de financiación[2] ☐

2.3 Instalación donde se va a desarrollar la actividad (si la instalación no está autorizada, cumplimente el Formulario Parte B):

2.3.1. Número de referencia de la notificación de la instalación (A/ES/../I-..):

A/ES/16/ I-06

2.3.2. Fecha de autorización de la instalación:

27 mayo 2016.

2.4 Si se va a realizar la actividad con un OMG generado en una actividad ya autorizada en la misma institución, indicar el número de notificación (A/ES/../..)

2.5 Si se va a realizar la actividad con un OMG que procede de una institución distinta a la que presenta la notificación[3]:

2.5.1. Nombre de la institución de origen del OMG:

Centro de Biologia Molecular Severo Ochoa

2.5.2. Número de referencia de la notificación de la actividad en el caso de que se realice en España (A/ES/../..):

A/ES/25/27.

2.5.3. Número de referencia de la notificación de la instalación en el caso de que se ubique en España (A/ES/../I-..):

A/ES/17/I-22

[1] **TASAS**
Están exentos del pago de la tasa los casos en los que se cumplan dos requisitos, que la actividad se realice en el marco de los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación; y que se desarrolle por una institución, ente u órgano público.

[2] Se deberá aportar la información que permita verificar esta circunstancia, tal y cómo se especifica en el formulario de solicitud, de forma que los datos aportados sean coincidentes en todos los formularios.

[3] Debe tenerse en cuenta que, si los OMG proceden de otra instalación española, ésta deberá haber cumplido con los requisitos establecidos en la legislación española de OMG. Si la actividad no dispone de número de notificación en el momento de presentar la solicitud, se deberá indicar el número de registro asignado a la misma.

2.5.4. Explicar cómo se realiza el transporte del OMG desde la instalación de origen teniendo en cuenta la legislación aplicable (especificar tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado)[4]:

El transporte del OMG (dos prototipos), pero también del inoculo vírico (en este caso la cepa Arm/07/CBM/c2 (GeneBank LR812933.1), se hará siguiendo la normativa en vigor. Para el OMG un paquete de resistencia adecuada expedido bajo numero UN3245 y para el inoculo un paquete de categoría A, de numero UN2900, con su correspondiente declaración de mercancía peligrosa. Si se requiriese hielo seco, etiquetado y terciario compatible y etiquetado con numero UN1845. Los dos paquetes a cargo de empresa de transporte autorizada.

2.6 Finalidad de la actividad:

La peste porcina africana (PPA) representa hoy en día la mayor amenaza para la industria porcina en todo el mundo. No hay vacuna ni tratamiento contra el virus de la PPA (VPPA), y actualmente la única forma de luchar contra la enfermedad, de declaración obligatoria a la OMSA (antigua OIE), es el sacrificio de los animales afectados y de los que se encuentran dentro del perímetro del foco de la infección, medidas cuestionables desde el punto de visto tanto ético como económico. Así pues, la necesidad de obtener una vacuna frente a la PPA es máxima.

Así pues, la necesidad de obtener una vacuna frente a la PPA es máxima. Es por ello que se han desarrollado prototipos vacunales LAV (live-attenuated vaccine): cepas del VPPA con replicación atenuada. Dichas cepas (Consultar expediente de actividad A/ES/25/27) podrían ofrecer un nuevo prototipo vacunal capaz de conferir protección contra el virus de la Peste porcina africana. Su utilización en nuestras instalaciones de alta seguridad biológica del IRTA-CReSA permitiría establecer su capacidad protectora en un ensayo in vivo frente a un desafío letal y si los resultados son prometedores, proceder a evaluar su seguridad y eficacia para ser utilizados en formulaciones vacunales frente al VPPA.

Todos los experimentos se realizarán en las instalaciones de alta biocontención (nivel de bioseguridad 3) del CReSA una vez aprobados por los comités de experimentación animal (IRTA y Generalitat de Catalunya) y el Comité de Bioseguridad del IRTA y la Comisión Nacional de Bioseguridad.

2.7 Clasificación de la actividad:

Para la clasificación del tipo de riesgo de las operaciones se seguirá el procedimiento establecido conforme al artículo 14 y el anexo III del Real Decreto 178/2004, de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril,

[4] Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones.
- **Reglamento (CE) Nº 1/2005 del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas** 64/432/CEE **y** 93/119/CE **y el Reglamento (CE) Nº** 1255/97**. Ley 32/2007, de 7 de noviembre**, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio (BOE núm. 268, 8.11.2007)
- **Reglamento (CE) Nº 1946/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].**
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad**. Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: https://bch.cbd.int/protocol/
- **Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances** Edición bianual de la OMS.

por la que se establece el régimen jurídico de la utilización confinada, liberación voluntaria y comercialización de organismos modificados genéticamente.

- Tipo 3 ☒
- Tipo 4 ☐

2.8 Naturaleza de las operaciones:

a. Enseñanza ☐

b. Investigación ☒

c. Desarrollo ☐

2.9 Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

(Debe concretarse lo más posible la duración de la actividad, por ejemplo, teniendo en consideración la duración de la financiación de los proyectos a los que están asociados las actividades con los OMG).

En la línea de desarrollo de una vacuna contra la PPA, se plantea realizar el experimento in vivo con los OMG durante 8 semanas (1 de aclimatación, 4 para inoculación) comprendiendo los meses de Noviembre y Diciembre y procesado de las muestras en meses posteriores. Todos los experimentos se realizarán en las instalaciones de alta seguridad del CReSA una vez aprobados por los comités de experimentación animal (IRTA y Generalitat de Catalunya), el comité de Bioseguridad del IRTA y la Comisión Nacional de Bioseguridad. La fase experimental con animales comprendería desde noviembre de 2025 a 20 de diciembre de 2025.

3. INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG (ver pie de página[5])

3.1 Organismo receptor del cual deriva el OMG:

Organismo que sufre la modificación genética. Organismo en el que se produce la inserción, deleción o cualquier otro tipo de modificación genética de forma permanente.

Nombre científico y común: VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA (VPPA) -; Familia Asfarviridæ, género Asfivirus. Nombre común: Virus de la Peste Porcina Africana.

Células humanas/primates	☐	Detallar las líneas celulares:
Células: otras	☐	Detallar las líneas celulares:
Animal	☐	
Planta	☐	
Bacteria	☐	
Hongo	☐	
Virus	☒	
Protozoos	☐	

[5] **No es necesario cumplimentar este apartado si el OMG procede de una instalación ya autorizada en España y el OMG ha sido también autorizado, o está en proceso de autorización en otra instalación. Consultar la Guía práctica para la remisión de solicitudes de registro de instalaciones para llevar a cabo actividades de utilización confinada con organismos modificados genéticamente sobre el documento de acceso a la información que es obligatorio presentar.**

3.1.1. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

a. Técnicas de aislamiento:

b. Técnicas de identificación:

c. Marcadores genéticos:

d. Marcadores fenotípicos:

e. Estabilidad genética:

3.1.2. El organismo receptor, ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?:

SI ☐

– Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes:

NO ☐

– Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser:

3.1.3. ¿Está el organismo receptor previamente modificado genéticamente?:

SI ☐

3.1.3.1. Indicar en qué consiste la modificación genética previa:

3.1.3.2. Número de referencia de la notificación de la actividad y de la instalación en la que se generó la modificación genética previa en el caso de que se haya realizado en España (A/ES/../.. y A/ES/../I-..)):

Consultar actividad aprobada A/ES/25/27 en la instalación A/ES/17/I-22.

3.1.3.3. Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos:

Debido a las modificaciones genéticas descritas en la actividad anteriormente citada, la virulencia del virus ha sido atenuada. No se contemplan cambios en el tropismo, la toxicidad ni otros efectos propios del patógeno.

NO ☒

3.1.4. Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

VPPA es patógeno en Sus scrofa. No es infectivo si está inactivado.

SI ☒ Para:

Humanos ☐

Animales ☒

Plantas ☐

Otros ☐

-Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

No aplica.

NO ☒

3.1.5. En el caso de cepas no virulentas de especies patógenas, ¿es posible excluir la reversión a la patogenicidad?:

SI ☐ NO ☒

3.1.6. Experiencia previa adquirida por el notificador en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:

Consultar expediente de actividad A/ES/25/27.

3.1.7. Información sobre la capacidad de supervivencia y de reproducción en el medio ambiente.

3.1.7.1. ¿El organismo receptor es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo?:

SI ☐

– Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

esporas ☐

endosporas ☐

quistes ☐

esclerocios ☐

esporas asexuales (hongos) ☐

esporas sexuales (hongos) ☐

otros, especifíquese:

NO ☒

3.1.7.2. Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

Fuera de las condiciones de cultivo el VPPA no puede expandirse, ya que necesita la presencia de células eucarióticas susceptibles. Se espera que el organismo receptor pueda sobrevivir fuera del huésped, pero al ser un virus con envuelta se puede desinfectar/inactivar con distintos métodos. El MAPA ha listado una serie de desinfectantes válidos para eliminar la viabilidad del VPPA (https://www.mapa.gob.es/es/ganaderia/temas/sanidad-animal-higiene-ganadera/listadeproductosdeeficaciaprobadafrentealvirusdelappajunio_tcm30-510548.pdf). El VPPA es relativamente resistente en el medio ambiente. La estabilidad del VPPA en diferentes condiciones ambientales fue objeto de numerosos estudios; la mayoría de ellos se llevaron a cabo en el siglo pasado y deberían revisarse/actualizarse.

3.1.7.3. Posibles nichos ecológicos:

Cerdos, jabalíes, garrapatas del género Ornithodoros y cerdos salvajes africanos (Facóquero común o jabalí verrugoso

3.1.7.4. Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

No aplica.

3.1.8. Efectos posibles sobre el medio ambiente:

3.1.8.1. Implicaciones en procesos ambientales *(p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo)*:

No aplica.

3.1.8.2. Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

No aplica. No se esperan interacciones con otros organismos en el medio ambiente ni tampoco ningún efecto en ningún otro organismo. Los experimentos se realizarán en instalaciones de bioseguridad de nivel 3 (BSL3) para eliminar cualquier probabilidad de que los virus se diseminen en el ambiente.

3.1.9. Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:

VPPA se encuentra erradicado de España. Actualmente está circulando en diversos puntos de Europa (incluyendo UE), gran parte de Asia, isla de Haití y varios países de África Subsahariana.

3.1.10. Hábitat natural del organismo:

Cerdos, jabalíes, garrapatas blandas del género Ornithodoros y cerdos salvajes africanos.

3.2 Organismo(s) donante(s). No completar el punto si no existiese organismo donante o si es el mismo que el organismo receptor.

Organismo del que se obtienen, mediante técnicas de extracción, amplificación o síntesis, gen(es) o cualquier secuencia de ADN o ARN para su inserción en un ORGANISMO RECEPTOR. El ORGANISMO DONANTE puede ser a su vez ORGANISMO RECEPTOR cuando sea modificado mediante mutagénesis que implique deleción, inserción u otra modificación de la secuencia de ADN. Los vectores de cualquier naturaleza y los organismos de los que proceden NO son organismos donantes.

Nombre científico y común:

Humanos ☐

Animal ☐

Planta ☐

Bacteria ☐

Hongo ☐

Virus ☐

Protozoos ☐

3.2.1. Se trabaja con él durante la actividad:

SI ☐ NO ☐

3.2.2. El organismo donante, ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?:

SI ☐

– Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes:

NO ☐

– Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser:

3.2.3. ¿Está el organismo donante previamente modificado genéticamente?:

SI ☐

– Indicar en qué consiste la modificación genética previa:

– Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos:

NO ☐

3.2.4. ¿Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares? (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

SI ☐ Para:

Humanos ☐

Animales ☐

Plantas ☐

Otros ☐

– Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

NO ☐

3.2.5. En el caso de cepas no virulentas de especies patógenas: ¿es posible excluir la reversión a la patogenicidad?:

SI ☐ NO ☐

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

3.3 Modificación genética

Se indicará cualquier técnica utilizada para la modificación genética del organismo receptor: recombinación por vectores, macroinyección, microinyección, transfección, transducción transformación, nucleofección, etc.

3.3.1. Objetivo de la modificación genética (sobreexpresión, silenciamiento, otros):

3.3.2. Tipo de modificación genética:

a. Inserción de material genético ☐

b. Deleción de material genético ☐

c. Sustitución de bases ☐

d. Otros, especifique:

3.3.3. ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?:
Virus, plásmidos o vectores de cualquier otra naturaleza.

SÍ ☐ NO ☐

En caso afirmativo:

3.3.3.1. Virus (vector vírico).

a. Si es comercial, link con la página web:

b. Si se genera en una instalación de otra institución[6]:

i) Nombre de la institución de origen:

ii) Número de referencia de la actividad (A/ES/../..):

iii) Número de referencia de la notificación de la instalación en el caso de que se ubique en España (A/ES/../I-..):

iv) Explicar cómo se realiza el transporte desde la instalación de origen teniendo en cuenta la legislación aplicable (especificar tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado)[7]:

c. Si se genera en la instalación para la actividad que se notifica

[6] Debe tenerse en cuenta que, si los OMG proceden de otra instalación en España, ésta deberá haber cumplido con los requisitos establecidos en la legislación española de OMG.

[7] Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- **(ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas)** del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones.
- **Reglamento (CE) Nº 1/2005 del Consejo**, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas 64/432/CEE y 93/119/CE y el Reglamento (CE) Nº 1255/97. **Ley 32/2007, de 7 de noviembre**, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio (BOE núm. 268, 8.11.2007)
- **Reglamento (CE) Nº 1946/2003** del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].
- **Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad**. Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: https://bch.cbd.int/protocol/

i) Aportar mapa de restricción del/los plásmidos que se utilizan para su obtención. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, y cualquier otro elemento presente en el vector. Si los plásmidos son comerciales indicar el link con la página web y si no son comerciales indicar el donante y la referencia bibliográfica.

ii) Indicar cómo se obtiene el vector vírico:

iii) Es defectivo en replicación

SÍ ☐ NO ☐

3.3.3.2. Plásmidos. Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector (si es comercial el link con la página web y si no es comercial indicar el donador y referencia bibliográfica):

3.3.3.3. Otro vector. Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector (si es comercial el link con la página web y si no es comercial indicar el donador y la referencia bibliográfica):

3.3.3.4. Gama de hospedadores:

3.3.3.5. Características de la movilidad del vector:

a. Factores de movilización

b. Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?:

c. ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos?:

3.3.3.6. Identificar posibles propiedades nocivas del/los vector/es utilizados:

3.3.4. Información de la secuencia insertada, delecionada o modificada.

3.3.4.1. Tipo de material genético obtenido del organismo donante (gen codificante o fragmento del mismo, miRNA, lncRNA, etc.):

3.3.4.2. Método de obtención:

a. Extracción ☐

b. PCR ☐

c. Síntesis *in vitro* ☐

3.3.4.3. Nombre y función(es) de la/s secuencia(s) o gen(es) insertado(s), delecionado(s) o modificado(s):

3.3.4.4. En el caso de que el inserto contenga distintas partes de genes o secuencias génicas, función de cada una de ellas:

3.3.4.5. Información sobre los genes estructurales:

3.3.4.6. Información sobre los elementos reguladores:

3.3.4.7. ¿Ha sido secuenciada?:

3.3.4.8. ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? En caso afirmativo, especifíquese:

3.3.4.9. ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese:

3.3.4.10. Identificar posibles propiedades nocivas del inserto:

3.3.5. Método utilizado para llevar a cabo la modificación genética:

a. Transformación ☐

b. Electroporación ☐

c. Macroinyección ☐

d. Microinyección ☐

e. Infección ☐

f. Transfección ☐

g. Fusión celular ☐

h. Otros, especifíquese:

3.3.6. Breve descripción de cómo se realiza la modificación genética del organismo receptor. (Se podrá incluir referencias bibliográficas para ampliar la información, pero no para sustituirla):

3.3.7. Análisis moleculares previstos relativos a la expresión del producto deseado *(PCR, Southern, Northern, secuenciación, otros)*:

a. Determinación de la estructura del inserto (secuenciación) ☐

b. Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA) ☐

c. Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas) ☐

3.4 Información relativa al/los OMG resultante (s)

Organismo cuyo material genético ha sido modificado de alguna manera (mediante deleción, mutación dirigida, sustitución o inserción de gen(es) o cualquier secuencia de DNA) que no se produce naturalmente en el apareamiento ni en la recombinación natural.

3.4.1. Descripción del/los OMG resultante(s) y nombre o designación, si es posible:

Consultar expediente de actividad A/ES/25/27.

3.4.2. Si se ha utilizado un vector, ¿cuál es su situación final en el OMG?:

3.4.2.1. Se pierde ☐

3.4.2.2. Se inserta en el genoma ☐

a. Aleatoriamente ☐

b. En un sitio definido ☐

– Localización cromosómica:

– Secuencias colindantes:

– La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

3.4.2.3. Se mantiene en forma episómica ☐

a. Número de copias:

b. Se dispone de información sobre la estabilidad del vector

3.4.2.4. Si el vector es un virus, ¿existe la posibilidad de formación de partículas víricas? Justificar:

3.4.3. Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor como resultado de la manipulación genética:

3.4.3.1. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo? En caso afirmativo, especifíquese:

3.4.3.2. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese:

3.4.3.3. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el ser humano, plantas o animales? En caso afirmativo, especificar:

3.4.3.4. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese:

3.4.3.5. ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese:

3.4.3.6. Marcadores específicos del OMG:

3.4.4. Información sobre la estabilidad genética previsible del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):

3.4.5. Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos. Justificar:

3.4.6. Descripción de métodos de identificación y aislamiento planificados:

a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

b. Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente:

4. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

4.1 Descripción de la actividad. (Breve resumen de ensayos que se prevén realizar con el OMG *in vitro* y/o *in vivo*):

Los animales utilizados para el estudio serán recibidos en las instalaciones del CReSA y se estabularan en diferentes boxes dejando una semana de aclimatación entre la llegada y la primera inoculación. Los signos clínicos de los animales serán registrados durante todo el curso del estudio.

Los OMG se manejarán siempre dentro de las instalaciones de alta bioseguridad del IRTA-CReSA. Tras la inoculación intramuscular in vivo del OMG en los cerdos, en diferentes dosis, y con o sin refuerzo (prime-boost) se obtendrán muestras de 10mL de sangre sin anticoagulante antes y después de su inoculación, sangre-EDTA, saliva e hisopos nasales para estudiar la respuesta inmune generada por los OMG en el animal y su cinética de crecimiento (replicación) usando los reporter genes para tal fin. Estos muestreos se harán semanalmente, cada 7 días, hasta que concluyan los experimentos con animales. Las muestras serán semanalmente colectadas, alicuotadas y analizadas en fresco de ser necesario, y sino posterior a su congelación a -75ºC.

En las necropsias, se obtendrán diferentes tejidos: linfonodos gastrohepático y submandibular, tonsila, GALT, BALT y bazo.

Las muestras obtenidas se almacenarán en serotecas, tubos eppendorf o crioviales en los ultracongeladores de las instalaciones de alta biocontención del IRTA-CReSA para su posterior procesamiento mediante las técnicas de qPCR (para el análisis de cargas virales), ELISA (anticuerpos), o ELISpot (Respuesta celular). Estas muestras siempre se usarán contemplando las reglas de seguridad establecidas en el laboratorio, dentro de barreras primarias, cabinas de seguridad biológica, CSB (ver apartado 5.3.).

Del mismo modo, los efluentes (orina, heces de los animales) se inactivan de manera rutinaria (desinfección química previa separación de sólidos destinados a incineración) y en ningún caso se espera recuperar muestras con altas concentraciones de virus, siempre muy por debajo del stock original.

4.2 Información sobre el volumen o cantidad de OMG a utilizar:

4.2.1. Volumen o concentración máxima por ensayo en el caso de microorganismos:

a. Para preparación de lotes:

No aplica.

b. Para Inoculaciones. Método de inoculación *in vitro/ in vivo*:

Inoculación in vivo intramuscular de OMG en solución salina (PBS) por animal.

4.2.2. Número aproximado de plantas por ensayo:

No aplica.

4.2.3. Número aproximado de animales por ensayo:

Un total de 20 animales (4 grupos de 5 animales cada uno).

5. EVALUACIÓN DE RIESGO

Se tendrán en cuenta los elementos y el procedimiento conforme al Anexo I del Real Decreto 178/2004 de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las notas de orientación para la evaluación de riesgo).

Identificar cómo pudieran afectar al OMG que se va a generar las posibles propiedades nocivas, sobre la salud y el medio ambiente que se han identificado previamente en el formulario (puntos 3.1, 3.2, 3.3.3.6 y 3.3.4.10, para el organismo receptor, donante, vector e inserto, respectivamente) ¿y medidas para mitigar los riesgos?:

5.1. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG[8]:

5.1.1. Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal:

No tienen efectos nocivos en la salud humana. No se esperan interacciones con otros organismos en el medio ambiente ni tampoco ningún efecto en ningún otro organismo. Los experimentos se realizarán en instalaciones de bioseguridad de nivel 3 (BSL3) para eliminar cualquier probabilidad de que los virus se diseminen en el ambiente.

5.1.2. Efectos para el medio ambiente:

Los OMGs no producen efectos distintos, para el medio ambiente, que los que puedan producir los aislados naturales.

Las actividades indicadas para las que los OMG serán utilizados se llevarán a cabo en un centro de investigación con altos niveles de bioseguridad y los OMG no serán liberados al medio ambiente. Asimismo, se trabajará con cantidades reducidas del OMG adoptando las medidas de bioseguridad apropiadas (descritas en las correspondientes secciones).

5.2. Descripción de las fases críticas de los ensayos en cuanto a bioseguridad:

Todas las actividades y fases de los ensayos previstos con el OMG se harán en las instalaciones de alta bioseguridad del IRTA-CReSA. Las características de la actividad son un uso confinado del OMG para inoculación en animales de experimentación (cerdos), y obtención de muestras para evaluar la respuesta inmune frente al mismo y su capacidad de conferir protección frente a un aislado virulento de VPPA. El confinamiento será el típico de una unidad de Alta Biocontención de grandes animales (con duchas obligatorias de salida, doble filtración absoluta el aire de salida, descontaminación química de los efluentes y eliminación de las carcasas infectadas por digestión alcalina o incineración). Todas estas barreras de confinamiento y control garantizan su no diseminación al exterior, por tanto, nulo impacto ambiental. Todos los residuos generados serán objeto de recogida por gestores autorizados. En los que respecta a la exposición humana, el patógeno animal es exclusivo de la especia porcina y no supone ningún riesgo para la especie humana, pero el personal en los boxes experimentales trabajará con guantes y mascarilla quirúrgica y en laboratorio todas las muestras se procesaran con los EPIs habituales y dentro de cabina de seguridad biológica.

5.3. Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse en las diferentes fases:

En CReSA NBS3:

Confinamiento primario: Cabinas de seguridad biológica (CSB); por ejemplo, CSB TELSTAR

[8]. Si se considera que no tienen efectos adversos para la salud y el medio ambiente, también hay que justificarlo.

BiOptima 4 CR-1594 y TELSTAR BiOptima 5 CR-1595 (a Virología CR/1032); CSB BIOSTAR CR-0246 y CR-0245 (Cultivo Celular, CR/1031); CSB ESCO StreamLine CR-1545 y BIO-IIA / P CR-0249 (a Bacteriología CR/1033); la CSB NUAIRE CR-1450 (a Biología Molecular CR/1035) donde pueden ser hechas las manipulaciones de las muestras infecciosas. Todas las CSB están sometidas a una verificación anual por empresa externa.

Centrífugas eppendorf 5810R, con rotores basculantes y cestos provistos de tapas herméticas con n / s 0.032.681 (CR-0271), n / s 0.032.680 (CR-0272), y n / s 0.032.682 (CR-0273). Verificación anual de su velocidad por empresa externa.

Confinamiento secundario y elementos de biocontención/protección: cascada de presiones negativas en la Unidad de Alta Biocontención. Boxes experimentales independientes con puertas con junta neumática y con sus propios sistemas de ducha y vestuarios; filtración absoluta independiente para cada box. Acceso del personal a la Unidad solamente si tienen activado su perfil biométrico y configurada para ese acceso.

6. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA[9]

6.1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El Centre de Recerca en Sanitat Animal (IRTA-CReSA) está certificado en Buenas Prácticas de Laboratorio por la Generalitat de Catalunya (Departament de Salut) desde el año 2009, con diversas renovaciones. El certificado actual tiene la referencia BPLI/2311/001/CAT.

6.2. Formación del personal adscrito:

El personal, tanto del equipo investigador como del equipo de gestión de la instalación y cuidado de los animales, que ejecutará el experimento tiene formación en bioseguridad y biocontención, por formación interna que se repite cada 6 meses y en algunos casos por formación externa demostrable. Algunos integrantes del equipo son doctores en veterinaria, biología y algunos dan docencia específica en bioseguridad y biocontención.

6.3. Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Aplicación de una desinfección de bancadas, superficies de trabajo e interior de cabinas de seguridad biológica, con diluciones 1/10 de lejía doméstica fresco, preparado en el día, con una concentración de cloro libre de 4.000-5.000 ppm, por tiempo de contacto 5-10 minutos y posterior retirada por aplicación de nebulización de una solución de etanol al 70%. Otros desinfectantes sustitutivos de la lejía diluida 1/10 son el Virkon al 1% o el PERAsafe a las concentraciones indicadas por el fabricante.

6.4. Programas de mantenimiento de los sistemas de confinamiento y protección:

Programa de mantenimiento de aparatos para el confinamiento, entendiendo como elementos de confinamiento; cabinas de seguridad biológica; centrifugas; autoclaves barrera y SAS (Airlock)

[9] En el caso de que la actividad se realice en una instalación ya autorizada, se deberán describir las medidas de protección adicionales a las descritas en el formulario B que se presentó en la solicitud para la autorización de la instalación, teniendo en cuenta el riesgo específico de la actividad.

MATACHANA, sistemas de generación de presión negativa, etc. Durante la parada técnica anual, los equipos son sometidos a verificación, y mantenimientos programados por parte de servicios técnicos externos (SAT), en ocasiones el mismo fabricante, con la emisión de los correspondientes informes de cumplimiento de especificaciones / rango de trabajo.

6.5. Programas de verificación y validación de los sistemas de confinamiento y protección:

Parada técnica anual de la Unidad de Alta Biocontención en la que se hace un control y revisión de los principales elementos críticos de la instalación. Control del confinamiento 24/365 por un sistema electrónico de gestión de parámetros críticos y un servicio del mantenimiento subcontratado externo siempre presente en la instalación. Auditorías internas a cargo del personal de la Oficina de Garantía de Calidad de IRTA-CReSA.

7. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

7.1. Encargado de la gestión de residuos:

7.1.1. Gestión interna: SÍ ☒ NO ☐

– Método de inactivación, forma final, destino de cada uno de los tipos de residuos generados:

Para residuos sólidos, Autoclave con una fase de esterilización que llega a 121ºC y mantiene esta temperatura durante 25 minutos (alternativamente tratamiento a 134ºC por 5 minutos). Para residuos líquidos, Autoclave con una fase de esterilización que llega a 121ºC y mantiene esta temperatura durante 25 minutos, sin fase de secado posterior.

Los autoclaves disponibles son: los propios Laboratorios NBS3 equipo MATACHANA S1000 n/s E-18015 y CR-0576; sala limpieza zona sucia, equipo MATACHANA n/s E-18016 y CR-0476 y en sala efluentes planta 0, equipo MATACHANA n/s E-18017 y CR-0477.

La eficacia de los autoclaves se evalúa con cada carga infecciosa con testigos microbiológicos de Geobacillus stearothermophilus, y anualmente por sondas propias calibradas (verificación interna) y verificación / mapeo por empresa externa.

Digestión alcalina de los cadáveres de animales infectados con patógenos no zoonóticos, mezclando carcasas y una solución de hidróxido potásico, hasta alcanzar un pH 13 y una temperatura de 150ºC por un mínimo de 3 horas a 3 atmósferas de sobrepresión. Para cadáveres infectados con virus zoonóticos, como sería el caso que nos ocupa, pequeño animal infectado con SARSCoV2, incineración en contenedores cerrados y herméticos para evitar toda manipulación por parte del personal ejecutante.

Tratamiento químico de los efluentes: Elevación del pH a 12 mediante la adición de hidróxido sódico (NaOH), con comprobación manual del valor de pH una vez alcanzado, mantenimiento en agitación constante durante 12 horas, neutralización del pH por adición de ácido clorhídrico (HCl) hasta alcanzar un pH entre 8 y 9,4. Una vez comprobado este pH hay que solicitar obligatoriamente autorización al responsable de la Unidad de Alta Biocontención o persona delegada, para proceder al vaciado del tanque.

Doble filtración mediante filtros HEPA de todo el aire que hay en la Unidad de Alta Biocontención (NBS3). Filtro HEPA absoluto a la salida de cada box experimental donde se mantienen los animales o bien en la sala de necropsias y batería de filtración de 10 filtros

HEPA absolutos previamente a la salida hacia el exterior lo que supone una doble filtración absoluta de todo aire que se encuentra dentro de la Unidad de Alta Biocontención.

En cuanto a los residuos citostáticos (agentes mutagénicos, intercalantes, caotrópicos, etc.) como pueden ser soluciones con bromuro de etidio, tampones de lisis y lavado de kits de extracción de ácidos nucleicos, etc., estos se descartan en bidones por residuos de tipo IV que son cerrados herméticamente y recogidos por gestor de transporte de residuos autorizado.

7.1.2. Gestión por una empresa externa: SÍ ☒ NO ☐

– Nombre de la empresa externa encargada de la gestión de los residuos:

PREZERO.

8. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES DE LA ACTIVIDAD NOTIFICADA

8.1. Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Inoculación accidental por mala praxis o uso de EPIs inadecuados; corte o pinchazo con objeto cortado o punzante por mala praxis o no uso de los EPIs correspondientes; inhalación y / o contacto con mucosas de producto químico tóxico, corrosivo, etc. por mala praxis o no uso de los EPIs correspondientes.

8.2. Equipamiento de seguridad (especifíquese):

El trabajo en la Unidad de Alta Biocontención implica trabajar con indumentaria especifica de la instalación, no se trabaja con ropa de calle u objetos personales. Técnica de doble guante a todas las actividades con muestras dentro y fuera de CSB. Bata de laboratorio parcialmente hidrofuga de frontal sólido, de puño cerrado. Calzado esterilizable al autoclave. Disponibilidad de protección respiratoria (mascarillas FFP3 y aparatos de respiración de presión positiva (Sundstrom)) en caso de que la evaluación de riesgo lo demande.

8.3. Descripción de la información y formación suministrada a los trabajadores:

Procedimientos normalizados de trabajo de aparatos (CSB, centrifugas, autoclaves, etc.) y salas; normas de actuación en caso de derrames en cabinas de seguridad biológica, superficies y accidentes en centrifugas.

8.4. Planes de emergencia y contingencia:

Hay un plan de emergencia aprobado a disposición del personal. También se dispone de un plan de contingencia en caso de desastres en el que se han evaluado ex ante las medidas a seguir en diferentes situaciones (inundación, cortes en suministros de agua, electricidad, carencia de suministros críticos, etc.).