PARTE A Y C	DIRECCION GENERAL CALIDAD Y EVALUACIÓN AMBIENTAL
Actividades de tipo 3 y 4	COMISIÓN NACIONAL DE BIOSEGURIDAD

NOTIFICACIÓN SOBRE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE ORGANISMOS MODIFICADOS GENETICAMENTE

I. INFORMACIÓN GENERAL

1. Responsables de la actividad

a. Entidad

Nombre: **IRTA-CReSA (Institut de Recerca i Tecnología Agroalimentàries)**

Dirección postal: **Torre Marimon, Crt C-59 km 12,1; 08140, Caldes de Montbui**

b. Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **Josep Usall Rodié**

NIF: **40.893.753-Y**

Cargo: **Director General**

Tel: **934.674.040**

Correo electrónico: **josep.usall@irta.cat**

c. Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **Fernando Rodriguez González**

NIF: **13.763.889-E**

Cargo: **Investigador**

Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1771**

Correo electrónico: **fernando.rodriguez@irta.cat**

d. Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad

Nombre y apellidos: **Xavier Abad Morejón de Girón**

NIF: **35.082.196-C**

Cargo: **Jefe de la Unidad de Biocontención y Laboratorios NBS2**

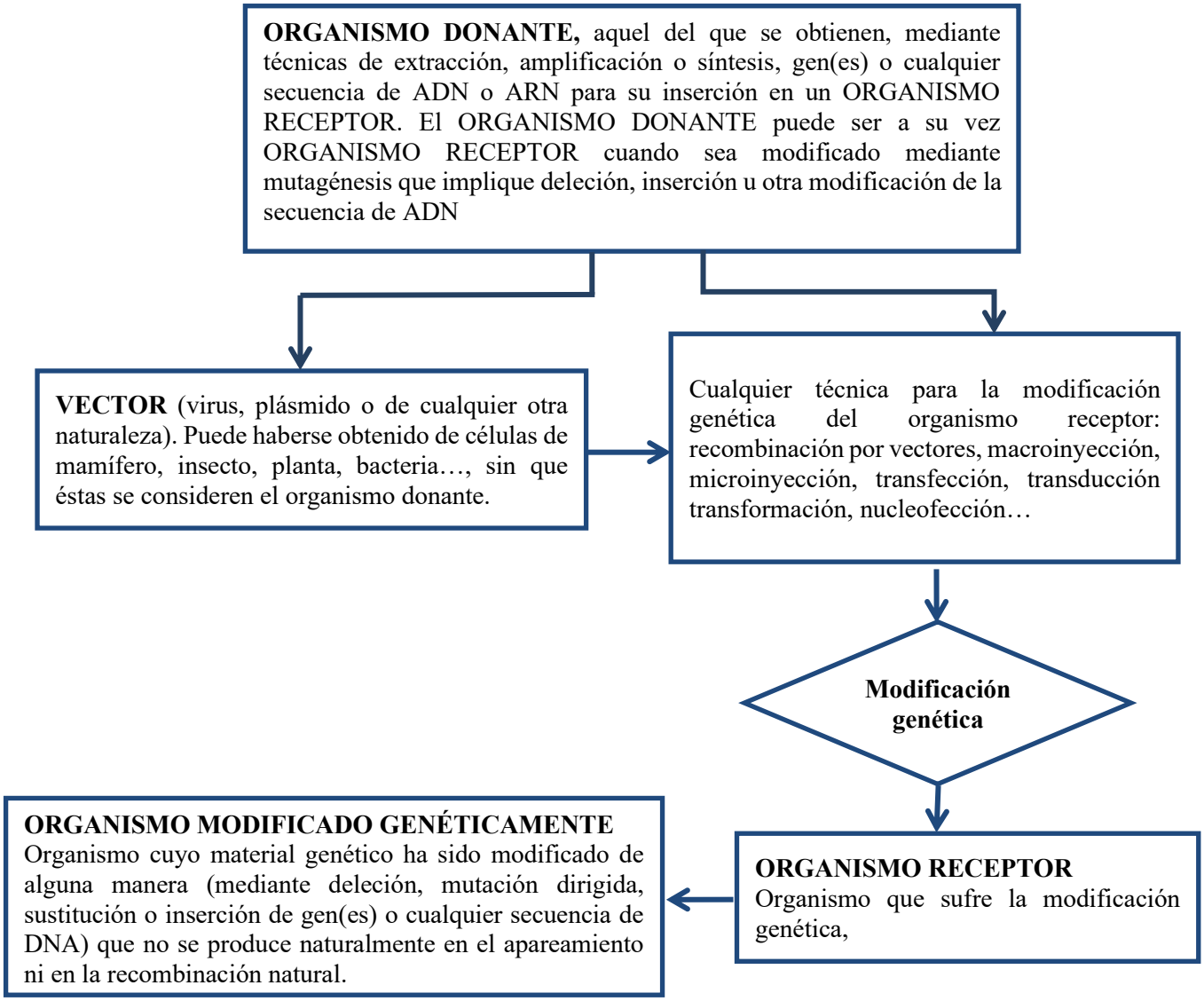
Tel: **(+34) 93.467.40.40 Ext. 1712**

Correo electrónico: **xavier.abad@irta.cat**

e. Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto:

Xavier Abad

PROCESO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE UN OMG A EFECTOS DE NOMENCLATURA:



II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1. Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica. 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, la competencia recae en la Administración General del Estado.

SI ☒ NO ☐

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

– Nombre de la convocatoria:

Convocatoria 2019 "Proyectos de I+D+i"

– Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

PID2019-107616RB-I00, Fernando Rodríguez (IP)

– Organismo financiador:

Ministerio de Ciencia e Innovación

Otro tipo de financiación[2] ☐

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

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

A/ES/16/ I-06

– Fecha de autorización de la instalación:

27 mayo 2016

Si el OMG no se genera en la instalación[3]:

– Nombre de la instalación de origen del OMG:

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

[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.

[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.

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

– 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]:

3. 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. En nuestro grupo hemos desarrollado un prototipo vacunal LAV (live-attenuated vaccine): una cepa del VPPA atenuada mediante deleción del CD2v, codificado por el gen EP402R. Dicha cepa (BA71ΔCD2) es capaz de proteger frente a una infección por su cepa parental y frente a otras cepas del mismo genotipo (genotipo I) o de otros (genotipo II). Su utilización en nuestras instalaciones de alta seguridad biológica del IRTA-CReSA permitiría establecer su seguridad y eficacia para ser utilizados en formulaciones vacunales frente al VPPA.

Dentro de este contexto y partiendo de resultados obtenidos en estudios previos de nuestro laboratorio, hemos identificado varias estrategias inmunomoduladoras para mejorar dicho prototipo vacunal. Para la generación de LAVs recombinados con adyuvantes moleculares, hemos aplicado un protocolo establecido en nuestro laboratorio que combina la recombinación homóloga o edición génica con CRISR/Cas9 para la adición del gen adyuvante de interés en el genoma del prototipo vacunal BA71ΔCD2, junto con la selección clonal del LAV recombinante resultante mediante la tecnología "single-cell sorting" por citometría de flujo.

Conctretamente, hemos generado LAVs a partir de BA71ΔCD2, en el que hemos añadido un gen de interés que actúa como adyuvante molecular (AM, de ahora en adelante en este documento) al codificar por un factor de transcripción implicado en la respuesta inmunitaria. En dichos LAVs, la inducción de la expresión del adyuvante molecular está regulada por el promotor viral temprano p30/32 o por el promotor viral tardío p72. Los LAVs recombinantes también llevan el gen "reporter" que codifica por la proteína sintética fluorescente iRFP670.

[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

En un primer objetivo de la propuesta experimental se plantea evaluar la seguridad y la respuesta inmune generada por dichos prototipos vacunales molecularmente adyuvantados y compararlos con la conferida por el prototipo vacunal original BA71ΔCD2. Para ello, se vacunarán intranasalmente (IN) un total de 30 cerdos: 2 grupos de 6 cerdos, uno con 10^6 pfu/dosis BA71ΔCD2-(p72)-AM-iRFP670 y otro con 10^6 pfu/dosis de BA71ΔCD2-(p30/32)-AM-iRFP670. Como controles, se vacunará un grupo de 6 cerdos con 10^6 pfu/dosis del prototipo vacunal (BA71ΔCD2), 6 animales con el prototipo vacunal fluorescente sin el adyuvante molecular (BA71ΔCD2-(p72)-iRFP670) y otro grupo de 6 cerdos con PBS como control no inmunizado. Se mantendrán los animales 3 semanas para observar la evolución de la respuesta inmunitaria de cada prototipo antes del desafío. Se obtendrán diversas muestras (hisopo nasal, sangre total y sangre-EDTA) para poder monitorizar la respuesta inmune generada, la carga viral y evaluar la protección conferida antes del desafío letal con VPPA, siguiendo protocolos establecidos en el laboratorio. Los muestreos serán a días SD0, SD7, SD14 y SD21.

En el segundo objetivo de la propuesta experimental se pretende caracterizar la eficacia de la protección inmunitaria generada con cada LAV recombinante comparándola con el prototipo vacunal original después de un desafío letal de VPPA. Para ello, en la segunda parte de la propuesta experimental, se desafiarán IN los 5 grupos de animales con la dosis letal de 10^5 HAU de la cepa VPPA Georgia2007/1. Los cerdos supervivientes se sacrificarán 21 días después del desafío.

Se obtendrán diversas muestras (hisopo nasal, sangre total y sangre-EDTA) para poder medir la respuesta inmune generada, la carga viral y evaluar la protección conferida antes y después del desafío letal con VPPA, siguiendo protocolos establecidos en el laboratorio. Los muestreos serán a días SD21, SD28, SD35 y SD42. Los animales supervivientes de sacrificarán a día SD42. En necropsia, se tomarán muestras de diferentes tejidos (Linfonodos gastrohepático y submandibular, tonsila, BALT, GALT y bazo).

El objetivo principal de dicha propuesta experimental es la de mejorar la respuesta contra VPPA del candidato vacunal existente, hacerlo más seguro y poder así disminuir la dosis óptima necesaria para una protección sólida. El segundo objetivo es el de caracterizar la respuesta inmune generada por los LAVs recombinantes y evaluar la importancia en la rápida activación de la inmunidad innata, juntamente con la inducción de la respuesta linfocítica, producida según nuestra hipótesis, por el adyuvante molecular.

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.

4. Clasificación de la actividad:

(Para la clasificación del tipo de riesgo de las operaciones se seguirá el procedimiento establecido conforme al artículo 4 y el anexo III de la Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las Notas de orientación para la evaluación del riesgo).

Tipo 3 ☒

Tipo 4 ☐

III. INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG

1. Organismo receptor del cual deriva el OMG:

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

-Especificar el nombre científico y común:

VIRUS DE LA PESTE PORCINA AFRICANA (VPPA) - cepa Ba71; Familia Asfarviridæ, género Asfivirus. Nombre común: Virus de la Peste Porcina Africana

a. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

i) Técnicas de aislamiento: La cepa Ba71 fue aislada en 1971 en Badajoz (España). Se cultiva en macrófagos alveolares porcinos (MAPs), línea celular primaria, aislados de pulmones de cerdo

ii) Técnicas de identificación: PCR

iii) Marcadores genéticos: PCR de las proteínas PK, p72 o p30

iv) Marcadores fenotípicos: No aplica

v) Estabilidad genética: Estable a largo plazo

b. La cepa/línea celular receptora: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?

SI ☒

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

Los virus VPPA y derivados recombinantes utilizados en nuestros laboratorios se cultivan y crecen en macrófagos alveolares porcinos previamente testados mediante PCR por los principales virus patógenos porcinos (PRRSV, PCV) y Mycoplasma spp.

NO ☐

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

c. Modificación genética anterior:

SI ☒

– Describir:

La modificación genética anterior dio lugar al prototipo vacunal BA71ΔCD2, atenuando la patogenicidad respecto a la cepa original BA71. Dicha modificación es

la delección del gen viral EP402R, que codifica por la proteína virulenta CD2v, y reemplazándolo por un gen reportero de origen bacteriano (GusA).

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

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

NO ☒

d. 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 crofa*, de forma dosis-dependiente. No es infectivo si está inactivado.

SI ☒

Para:

Humanos ☐

Animales ☒

Plantas ☐

Otros ☐

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

No aplica.

NO ☐

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

SI ☐ NO ☒

f. Experiencia previa adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:

Dependiendo de la dosis administrada se puede observar virulencia.

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

i) ¿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 ☒

ii) 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 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.

iii) Posibles nichos ecológicos:

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

iv) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

No aplica.

h. Efectos posibles sobre el medio ambiente:

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

No aplica.

ii) 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.

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

El 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.

j. Hábitat natural del organismo:

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

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

Humanos	☒
Animal	☐
Planta	☐
Bacteria	☒
Hongo	☐
Virus	☐
Protozoos	☐

-Especificar el nombre científico y común:

Taxonomía: El **gen GusA** proviene de *E. coli*. *Escherichia coli*. Taxonomía: Reino: Bacteria; Filo: Proteobacteria; Clase: Gamma Proteobacteria; Orden: Enterobacteriales; Familia: Enterobacteriaceae; Género: Escherichia; Especie: *Escherichia coli*. El **gen iRFP670** codifica por una proteína fluorescente. Es un gen artificial derivado del gen RpBphP6 de *Rhodopseudomonas palustris.* Reino: Bacteria; Filo: Pseudomonadota; Clase:Alphaproteobacteira; Orden: Hyphomicrobiales; Familia: Nitrobacteriaceae; Género: Rhodopseudomonas; Especie: *Rhodopseudomonas palustris.* La secuencia usada del gen que codifica por el adyuvante molecular (AM) proviene de *Homo sapiens*, ya que para la secuencia del gen homólogo en cerdo sólo existe la predicción y su porcentaje de identidad con la secuencia humana es del 100-99.93%. Reino: Animalia; Filo: Chordata; Clase: Mammalia; Orden: Primates; Familia: Hominidae; Género: Homo; Especie: *Homo sapiens.*

a. Se trabaja con él durante la actividad:

SI ☐ NO ☒

b. La cepa/línea celular donante: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?

SI ☒

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

No aplica, los genes vienen insertados en plásmidos donantes comerciales, en formato DNA.

NO ☐

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

c. Modificación genética anterior:

SI ☐

– Describir:

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

d. 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):

Escherichia coli forma parte de la microbiota intestinal de muchas especies animales, incluyendo la humana. *Escherichia coli* podría actuar como patógeno oportunista *Rhodomopseudomonas palustris* se ha encontrado extensivamente en la naturaleza. No es patógena humana ni animal.

SI ☐ Para:

Humanos ☐

Animales ☐

Plantas ☐

Otros ☐

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

No aplica.

NO ☒

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

SI ☐ NO ☒

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

ADN del gen "reporter" bacteriano GusA, ADN del gen "reporter" artificial iRFP670 y ADN del gen humano codificante del adyuvante molecular.

g. Método de obtención:

- Extracción ☐
- PCR ☐
- Síntesis *in vitro* ☒

h. Función del gen/genes o secuencias en el organismo donante:

La función del gen GusA es el metabolismo de los carbohidratos en *E. coli.* iRFP670 no tiene función en el microorganismo donante porque es una proteína fluorescente sintética derivada de la bacteriana RpBphP6. EL adyuvante molecular (AM) es un factor de transcripción que tiene un rol importante en la inmunidad innata, activando la expresión de los interferones y citoquinas proinflamatorias.

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

No.

IV. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

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

Para el prototipo vacunal BA71ΔCD2, atenuación de la patogenicidad del virus VPPA para ser utilizado como vacuna (deleción del gen vírico E402R e inserción del gen "reporter" GusA de origen bacteriano en su lugar).

Partiendo del virus atenuado BA71ΔCD2, se han insertado los promotores de p30/32 o p72 de VPPA, junto con el gen "reporter" iRFP670 y/o el gen AM. El objetivo es la sobrexpresión de AM para la inducción mejorada de la activación de una respuesta inmune generada por el prototipo vacunal atenuado existente. La adición del gen "reporter" iRFP670 se utiliza para poder determinar si hay infección mediante señal fluorescente.

2. Tipo de modificación genética:

- Inserción de material genético ☒
- Deleción de material genético ☒
- Sustitución de bases ☐
- Otros, especifique:

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

- Transformación ☐
- Electroporación ☐
- Macroinyección ☐
- Microinyección ☐
- Infección ☒
- Transfección ☒
- Fusión celular ☐

Otros, especifique:

Recombinación homóloga o edición génica con CRISPR/Cas9 mediante infección de la cepa viral atenuada y transformación del plásmido donante en macrófagos alveolares de cerdo.

4. ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?

SÍ ☒ NO ☐

En caso afirmativo:

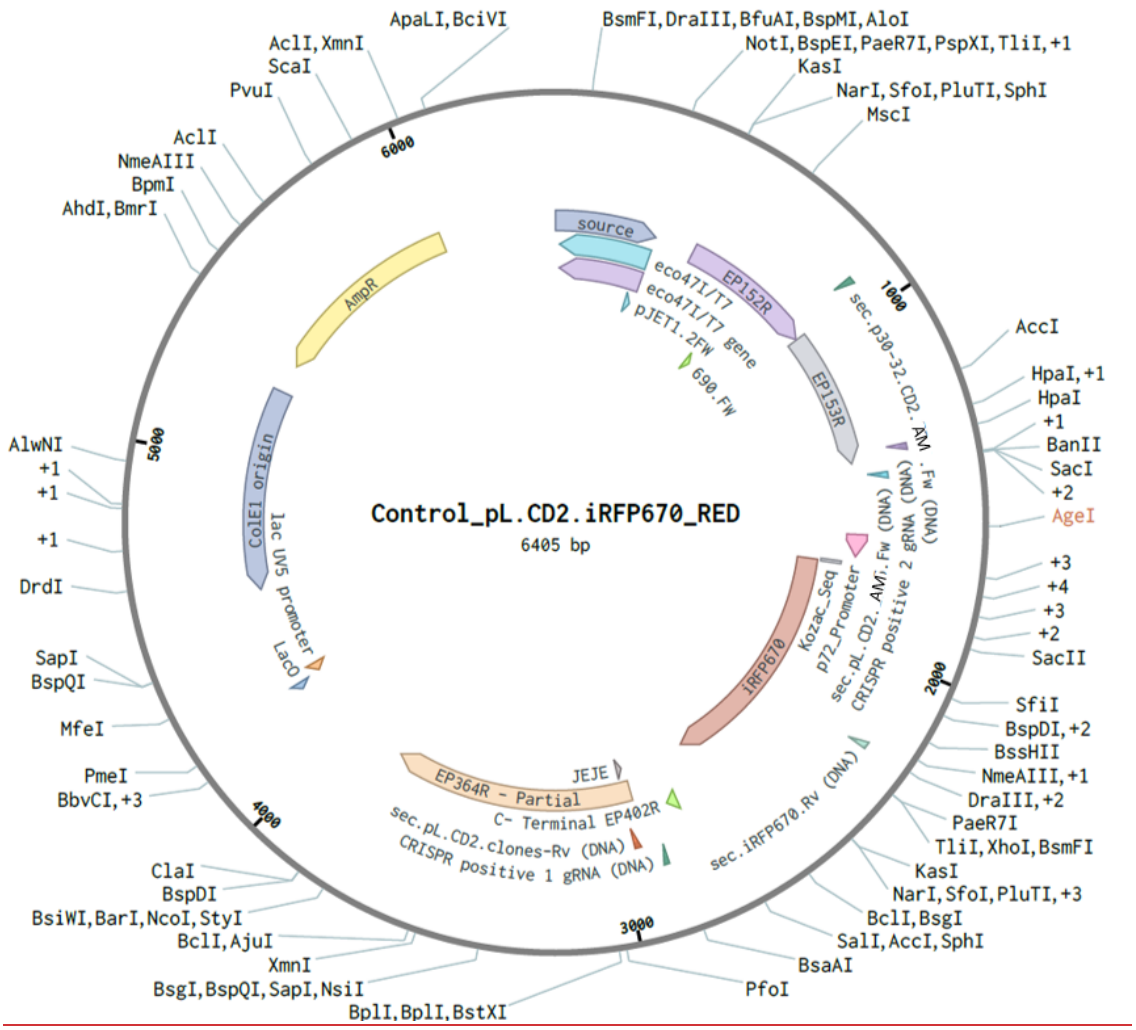
a. Tipo e identidad del vector (plásmido, virus, otros):

Plásmido pLacIΔCD2, pL.CD2.iRFP70_RED, pL.CD2.AM.iRFP670_RED y pL.CD2_p30/32_AM.iRFP670_RED.

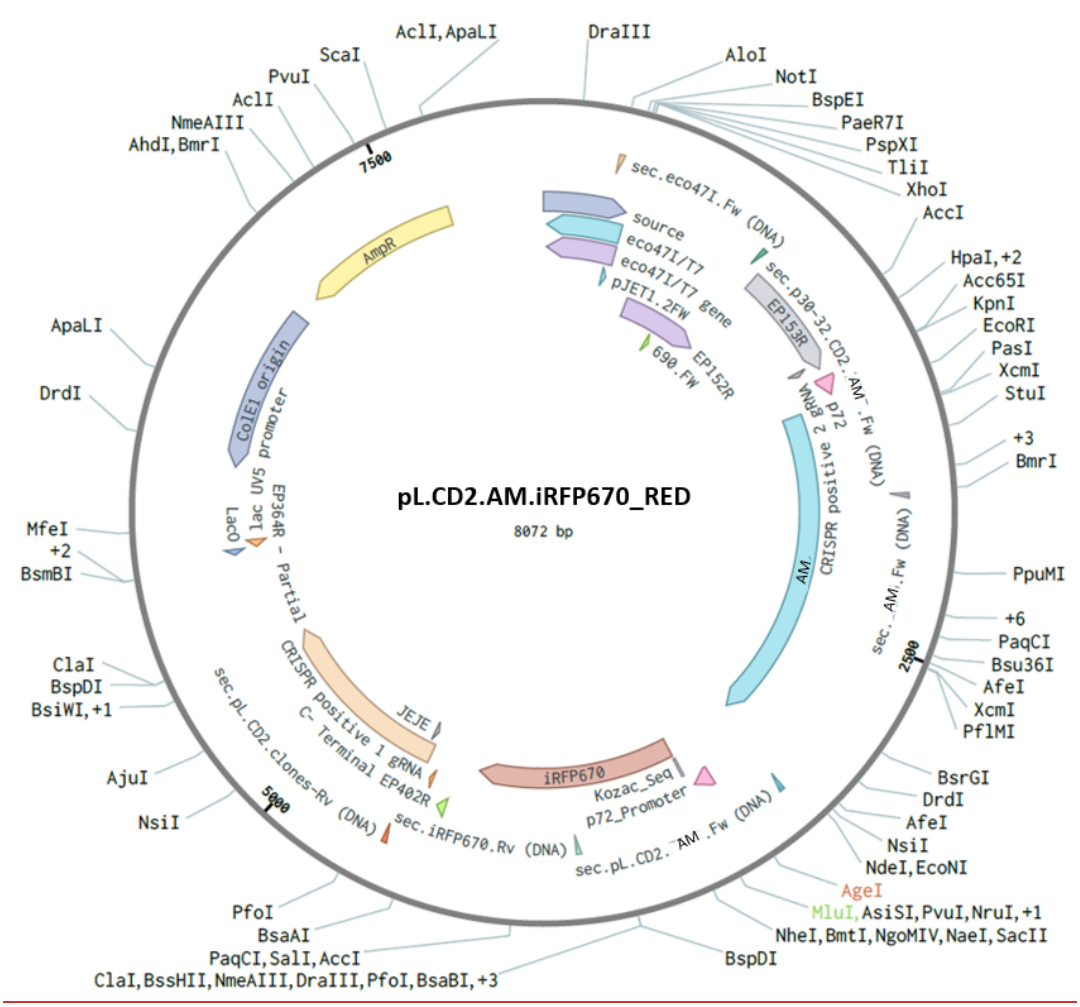
i) Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector.

Mapa vector pLacI.ΔCD2:

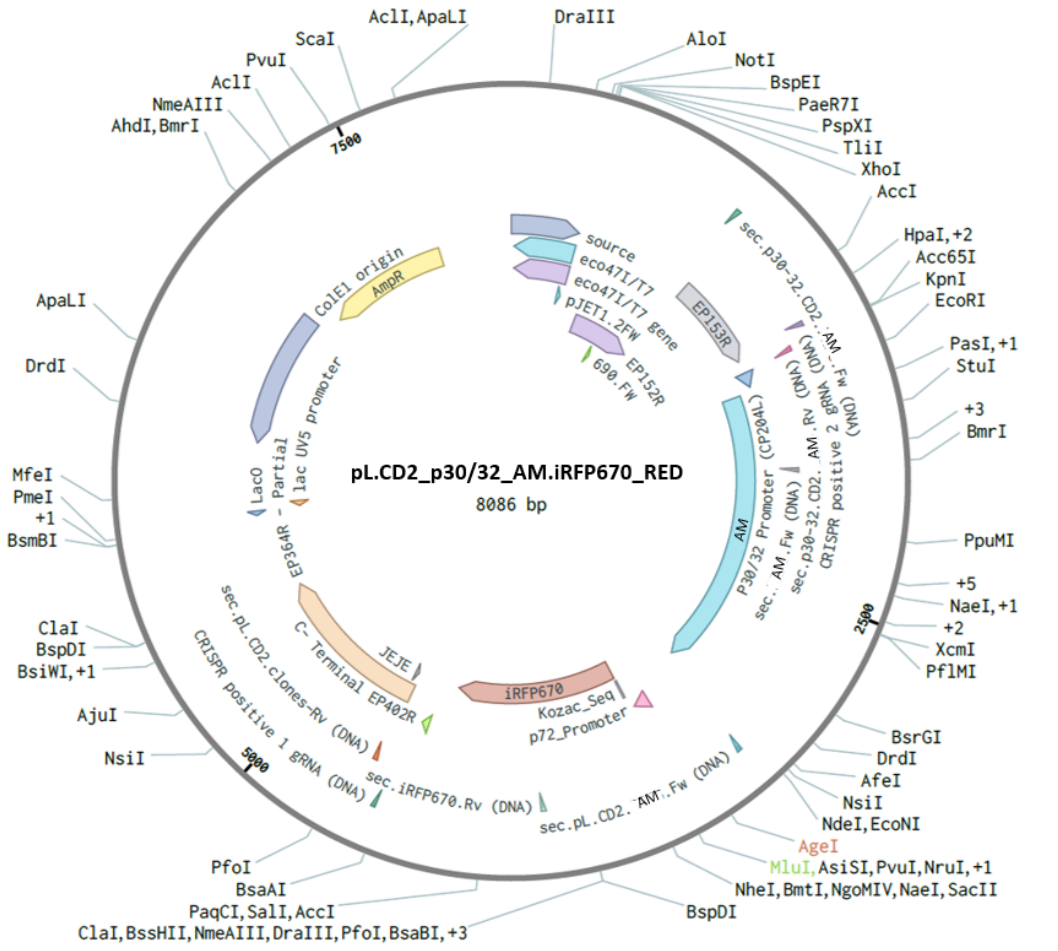
Mapa del vector pL.CD2.iRFP670_RED:



Mapa del vector pL.CD2.AM.iRFP670_RED:



Mapa del vector pL.CD2_p30/p32_AM.iRFP670_RED:



ii) Si se trata de virus:

- Es defectivo en replicación SÍ ☐ NO ☐
- Indicar cómo se obtiene el vector viral. Si se utilizan plásmidos para su obtención aportar mapa de restricción del/los plásmidos. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes.

b. Gama de hospedadores del vector:

Sólo para transformación en E.coli y recombinación con VPPA.

c. Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

No aplica.

ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?

No aplica.

iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos?

No.

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

a. Función específica de cada parte de la secuencia insertada, delecionada o modificada:

La función de la proteína de E. coli es el metabolismo de los carbohidratos, en el GMO actúa como gen "reporter".

AM es un factor de transcripción que tiene un rol importante en la inmunidad innata, activando la expresión de los interferones y citoquinas proinflamatorias.

iRFP670 no tiene función en el microorganismo donante porque es una proteína fluorescente sintética derivada de la bacteriana RpBphP6.

b. Información sobre los genes estructurales:

No aplica.

c. Información sobre los elementos reguladores:

Promotor vírico p72 o p30/32 controlando la expresión del gen adyuvante y genes "reporter".

d. ¿Ha sido secuenciada?

SÍ.

gusA gene sequence:

ATGTTACGTCCTGTAGAAACCCCAACCCGTGAAATCAAAAAACTCGACGGCCT
GTGGGCATTCAGTCTGGATCGCGAAAACTGTGGAATTGATCAGCGTTGGTGGG
AAAGCGCGTTACAAGAAAGCCGGGCAATTGCTGTGCCAGGCAGTTTTAACGA
TCAGTTCGCCGATGCAGATATTCGTAATTATGTGGGCAACGTCTGGTATCAGC
GCGAAGTCTTTATACCGAAAGGTTGGGCAGGCCAGCGTATCGTGCTGCGTTTC
GATGCGGTCACTCATTACGGCAAAGTGTGGGTCAATAATCAGGAAGTGATGG
AGCATCAGGGCGGCTATACGCCATTTGAAGCCGATGTCACGCCGTATGTTATT
GCCGGGAAAAGTGTACGTATCACCGTTTGTGTGAACAACGAACTGAACTGGC
AGACTATCCCGCCGGGAATGGTGATTACCGACGAAAACGGCAAGAAAAAGCA
GTCTTACTTCCATGATTTCTTTAACTACGCCGGGATCCATCGCAGCGTAATGCT
CTACACCACGCCGAACACCTGGGTGGACGATATCACCGTGGTGACGCATGTCG
CGCAAGCCTGTAACCACGCGTCTGTTGACTGGCAGGTGGTGGCCAATGGTGAT
GTCAGCGTTGAACTGCGTGATGCGGATCAACAGGTGGTTGCAACTGGACAAG
GCACCAGCGGGACTTTGCAAGTGGTGAATCCGCACCTCTGGCAATCGGGTGA
AGGTTATCTCTATGAACTGTGCGTCACAGCCAAAAGCCAGACAGAGTGTGATA
TCTACCCGCTGCGCGTCGGCATCCGGTCAGTGGCAGTGAAGGGCGAACAGTTC
CTGATCAACCACAAACCGTTCTACTTTACTGGCTTTGGCCGTCATGAAGATGC
GGATTTGCGCGGCAAAGGATTCGATAACGTGCTGATGGTGCACGATCACGCAT
TAATGGACTGGATTGGGGCCAACTCCTACCGTACCTCGCATTACCCTTACGCT
GAAGAGATGCTCGACTGGGCAGATGAACATGGCATCGTGGTGATTGATGAAA
CTGCAGCTGTCGGCTTTAACCTCTCTTTAGGCATTGGTTTCGAAGCGGGCAAC
AAGCCGAAAGAACTGTACAGCGAAGAGGCAGTCAACGGGGAAACTCAGCAG

GCGCACTTACAGGCGATTAAAGAGCTGATAGCGCGTGACAAAAACCACCCAA
GCGTGGTGATGTGGAGTATTGCCAACGAACCGGATACCCGTCCGCAAGGTGC
ACGGGAATATTTCGCGCCACTGGCGGAAGCAACGCGTAAACTCGACCCGACG
CGTCCGATCACCTGCGTCAATGTAATGTTCTGCGACGCTCACACCGATACCAT
CAGCGATCTCTTTGATGTGCTGTGCCTGAACCGTTATTACGGATGGTATGTCCA
AAGCGGCGATTTGGAAACGGCAGAGAAGGTACTGGAAAAAGAACTTCTGGCC
TGGCAGGAGAAACTGCATCAGCCGATTATCATCACCGAATACGGCGTGGATA
CGTTAGCCGGGCTGCACTCAATGTACACCGACATGTGGAGTGAAGAGTATCA
GTGTGCATGGCTGGATATGTATCACCGCGTCTTTGATCGCGTCAGCGCCGTCG
TCGGTGAACAGGTATGGAATTTCGCCGATTTTGCGACCTCGCAAGGCATATTG
CGCGTTGGCGGTAACAAGAAGGGCATCTTCACCCGCGACCGCAAACCGAAGT
CGGCGGCTTTTCTGCTGCAAAAACGCTGGACTGGCATGAACTTCGGTGAAAAA
CCGCAGCAGGGAGGCAAACAATGA.

Secuencia génica gen AM (se encuentra disponible en el documento no público).

Secuencia génica iRFP670:

ATGGCGCGTAAGGTCGATCTCACCTCCTGCGATCGCGAGCCGATCCACATCCC
CGGCAGCATTCAGCCGTGCGGCTGCCTGCTAGCCTGCGACGCGCAGGCGGTGC
GGATCACGCGCATTACGGAAAATGCCGGCGCGTTCTTTGGACGCGAAACTCCG
CGGGTCGGTGAGCTACTCGCCGATTACTTCGGCGAGACCGAAGCCCATGCGCT
GCGCAACGCACTGGCGCAGTCCTCCGATCCAAAGCGACCGGCGCTGATCTTCG
GTTGGCGCGACGGCCTGACCGGCCGCACCTTCGACATCTCACTGCATCGCCAT
GACGGTACATCGATCATCGAGTTCGAGCCTGCGGCGGCCGAACAGGCCGACA
ATCCGCTGCGGCTGACGCGGCAGATCATCGCGCGCACCAAAGAACTGAAGTC
GCTCGAAGAGATGGCCGCACGGGTGCCGCGCTATCTGCAGGCGATGCTCGGC
TATCACCGCGTGATGTTGTACCGCTTCGCGGACGACGGCTCCGGGATGGTGAT
CGGCGAGGCGAAGCGCAGCGACCTCGAGAGCTTTCTCGGTCAGCACTTTCCGG
CGTCGCTGGTCCCGCAGCAGGCGCGGCTACTGTACTTGAAGAACGCGATCCGC
GTGGTCTCGGATTCGCGCGGCATCAGCAGCCGGATCGTGCCCGAGCACGACG
CCTCCGGCGCCGCGCTCGATCTGTCGTTCGCGCACCTGCGCAGCATCTCGCCC
TGCCATCTCGAATTTCTGCGGAACATGGGCGTCAGCGCCTCGATGTCGCTGTC
GATCATCATTGACGGCACGCTATGGGGATTGATCATCTGTCATCATTACGAGC
CGCGTGCCGTGCCGATGGCGCAGCGCGTCGCGGCCGAAATGTTCGCCGACTTC
TTATCGCTGCACTTCACCGCCGCCCACCACCAACGCTAA.

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

No.

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

No.

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

a. Si el vector es un plásmido

i) Se pierde ☒

ii) Se inserta en el genoma ☐

- Aleatoriamente ☐
- En un sitio definido ☐
  - Localización cromosómica:
    ☐
  - Secuencias colindantes:
    ☐
  - La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:
    ☐

iii) Se mantiene en forma episómica ☐

- Número de copias:
  ☐
- Se dispone de información sobre la estabilidad del vector
  ☐

b. Si el vector es un virus:

i) Se mantiene en forma episómica ☐

ii) Se inserta en el genoma ☐

- La inserción se produce al azar ☐
- La inserción es específica ☐
  - Localización cromosómica:
    ☐
  - Secuencias colindantes:
    ☐
  - La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:
    ☐

iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas. Justificar:
☐

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

i) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación) ☒

ii) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA) ☐

iii) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas) ☐

V. INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (OMG)

1. Descripción del OMG final

BA71ΔCD2 es una cepa del VPPA atenuada mediante deleción del gen EP402R, que codifica por la proteína CD2v. Las tres variantes de OMG producidas a partir de BA71ΔCD2 contendrán, todas, el gen "reporter" iRFP670. Una de ellas, tiene el promotor viral de p30/32 regulando la expresión de transcritos de AM. La segunda variante difiere de la primera en el promotor viral usado, en este caso el promotor de p72. La tercera variante OMG solo contendrá el gen "reporter" iRFP670.

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

a. ¿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:

No.

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

No.

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

Sí. Los OMGs contienen la delección del gen virulento CD2v, que atenúa la cepa. A las dosis ensayadas no producen enfermedad en el cerdo. No es patógeno para el ser humano ni para plantas.

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

No.

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

No aplica.

f. Marcadores específicos del OMG:

Gen "reporter" gusA o iRFP670.

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

Estable a largo plazo, análisis en curso.

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

No.

5. Descripción de métodos de identificación y aislamiento planificados:

a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:

PCR, secuenciación.

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

No aplica. El OMG se usará únicamente en las instalaciones de alta seguridad biológica del IRTA-CReSA por lo que no habrá liberación en el medio ambiente.

VI. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1. Descripción de la actividad. (Breve resumen de los ensayos que se prevén realizar, incluidos los que se llevarán a cabo con el OMG).

Los OMG se manejarán siempre dentro de las instalaciones de alta bioseguridad del IRTA-CReSA. Tras la inoculación intranasal *in vivo* del OMG en los cerdos, 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. Estos muestreos se harán semanalmente, cada 7 días, hasta que concluyan los experimentos con animales.

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 congeladores de las instalaciones de alta biocontención del IRTA-CReSA para su posterior procesamiento mediante las técnicas de qPCR, ELISA, citometría, Luminex, Trizol o ELISpot. Estas muestras siempre se usarán contemplando las reglas de seguridad establecidas en el laboratorio, dentro de barreras primarias, CSB (ver apartado 8 del título VII).

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.

2. Información sobre el volumen o cantidad de OMG a utilizar:

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

i) Para preparación de lotes

No aplica.

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

Inoculación *in vivo* intranasal, 2mL de OMG en solución salina (PBS) por animal. Dosis segura máxima es de 10^6 PFU por animal. 12mL de cada OMG, 48mL totales de OMG

b. Número aproximado de plantas por ensayo:

No aplica.

c. Número aproximado de animales por ensayo:

Un ensayo con 30 animales en total.

Para el ensayo, 30 cerdos Landrace x Large White de 7-8 semanas de edad, de los cuales 6 serán inoculados con PBS como grupo control no inmunizado, 12 animales en grupos de 6, cada uno inoculado con un prototipo vacunal OMG molecularmente adyuvantado (BA71ΔCD2-(p30/32)-AM-iRFP670 o BA71ΔCD2-(p72)-AM-iRFP670, 6 animales serán vacunados con el prototipo vacunal BA71ΔCD2 y 6 animales inoculados con el prototipo vacunal OMG con el gen "reporter" iRFP50 sin el adyuvante molecular (BA71ΔCD2-(p72)-iRFP670). A día SD21, los 30 animales serán desafiados con la dosis letal de 10^5 HAU de VPPA Georgia2007/1.

3. Naturaleza de las operaciones:

a. Enseñanza ☐

b. Investigación ☒

c. Desarrollo ☐

4. 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 (2 de aclimatación, 3 para vacunación y 3 para el desafío), comprendiendo los meses de abril y mayo de 2024. 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.

VII. 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).

1. Identificar cómo pudieran afectar las posibles propiedades nocivas del organismo receptor, donante, inserto y vector al OMG que se va a generar:

(Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto).

a. Organismo receptor.

La cepa BA71ΔCD2 del virus de la peste porcina africana (VPPA) es un prototipo vacunal experimental. A partir de la cepa parental patógena BA71 se han eliminado, mediante recombinación homóloga, la proteína CD2v codificada por el gen EP402R y se ha reemplazado por el gen "reporter" GusA. Dicha deleción hace que el virus sea atenuado en su huésped natural, el cerdo.

Derivado del BA71ΔCD2, se ha clonado en lugar del gen GusA, el gen "reporter" iRFP670 por recombinación homóloga. Las diferentes variantes de este experimento contienen o no el gen humano AM junto a un promotor propio del organismo receptor (promotores de la p30/32 o de la p72).

Estos virus se han generado en las propias instalaciones de IRTA-CReSA.

b. Organismo donante.

El organismo donante en el caso del OMG BA71ΔCD2 es *Escherichia coli*. Dicha bacteria forma parte del microbiota intestinal de muchas especies animales, incluyendo la humana. *Escherichia coli* puede actuar como patógeno oportunista. La obtención del plásmido de transferencia codificando para el gen GusA (utilizado como gen reporter en el OMG resultante) se hizo por síntesis *in vitro*.

En el caso de los OMG BA71ΔCD2-(p30/32)-AM-iRFP670, BA71ΔCD2-(p72)-AM-iRFP670 y BA71ΔCD2-(p72)-iRFP670, los organismos donantes son *Rhodopseudomonas palustris* para el gen artificial derivado iRFP670 y *Homo sapiens* para el gen AM.

c. Inserto.

La función del inserto (gen GusA) es el metabolismo de los carbohidratos por parte del organismo donante, *E. coli*. En el GMO actúa como un gen "reporter". AM es un factor de transcripción que tiene un rol importante en la inmunidad innata, activando la expresión de los interferones y citoquinas proinflamatorias. En gen iRFP670 no tiene función en el microorganismo donante porque es una proteína fluorescente sintética derivada de la bacteriana RpBphP6. En el organismo receptor actúa como gen "reporter".

d. Vector.

Para la generación del OMG BA71ΔCD2, el vector de transferencia utilizado fue el plásmido pLacI.

Para la generación de los OMG BA71ΔCD2-(p30/p32)-AM-iRFP670, BA71ΔCD2-(p72)-AM-iRFP670 y BA71ΔCD2-(p72)-iRFP670 se usaron respectivamente los vectores pL.CD2.p30/32.AM.iRFP670.RED, pL.CD2.p72.AM.iRFP670_RED y pL.CD2.iRFP670_RED.

Los OMG resultantes no muestran ningún cambio durante la replicación en cultivo celular (macrófagos alveolares porcinos, MAPs), y son atenuados.

Los vectores usados no contienen ningún elemento regulatorio para eucariotas conocido.

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), con lo que no se liberará al medio ambiente en ningún momento.

Ver mapas de los vectores en apartado **IV, 4, i).**

2. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG[5]

a. 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.

b. Efectos para el medio ambiente.

No aplica.

3. 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

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

grandes animales (con duchas obligatorias de salida, filtración absoluta el aire, 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.

4. 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 BIOSTAR CR-0247 y CR-0250 (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.

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

1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

El Centre de Recerca en Sanitat Animal (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 BPL/2001/001/CAT (17/gener/2020).

2. Formación del personal adscrito:

El personal experimental adscrito tiene experiencia probada desde hace muchos años en el manejo de infeccione experimentales con el virus de la peste porcina africana silvestre, patogénico. El personal al cargo de las instalaciones y el cuidado de los animales tiene experiencia equivalente. El personal tiene a disposición formaciones internas semestrales de bioseguridad, biocontención, uso de equipos críticos y equipos de protección individual. La mayoría de ellos son doctores en veterinaria o biología y el personal al cuidado de los animales dispone de la preceptiva autorización.

[6] 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.

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. En cuanto a animalario consultar procedimientos internos específicos, aunque el desinfectante de rutina es Virkon a concentraciones entre el 1% y el 4%.

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

Para CReSA-NBS3: Programa de mantenimiento de aparatos por el confinamiento, entendiendo como elementos de confinamiento; cabinas de seguridad biológica; centrifugas; autoclaves barrera y SAS (Airlock) 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.

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

Para NBS3: 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 CReSA.

IX. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1. Encargado de la gestión de residuos:

   a. Gestión interna: SÍ ☒ NO ☐

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

Para CReSA-NBS3: Para residuos sólidos, Autoclave con una fase de esterilización que llega a 121□C 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 121□C 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 150□C por un mínimo de 3 horas a 3 atmósferas de sobrepresión. Para cadáver infectados con virus zoonóticos, no es el presente caso, 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.

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

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

PREZERO

X. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES DE LA ACTIVIDAD NOTIFICADA

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.

2. Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Para CReSA-NBS3: 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 desinfectable. Disponibilidad de protección respiratoria (mascarillas FFP3 y aparatos de respiración de presión positiva (Sundstrom)) en caso de que la evaluación de riesgo lo demande.

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.

4. Planes de emergencia y contingencia:

Hay un plan de emergencia aprobado a disposición del personal.